

**Untersuchungen
zum Entwicklungszyklus
von Myxobolus cerebralis
und Myxobolus cotti -
Übertragung sowie licht-
und elektronenmikroskopische Befunde**

Mansour El-Matbouli

Disbui. München
1988





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Untersuchungen zum Entwicklungszyklus von
Myxobolus cerebralis und Myxobolus cotti -
Übertragung sowie licht- und elektronenmikroskopische Befunde

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs für Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
Mansour El-Matbouli
aus Ägypten

München 1988

1. Gutachter: Prof. Dr. Renner
2. Gutachter: Prof. Dr. Siebeck
3. Sondergutachter: Prof. Dr. R. Hoffmann

Tag der Promotion: 20.10.1988

Gedruckt mit Unterstützung der Friedrich-Ebert-Stiftung

Meiner lieben verstorbenen Mutter,

meiner Familie und Mona

in großer Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	4
II. Literaturbesprechung	5
1. Allgemeine Biologie der Myxosporea	5
2. Systematische Einteilung der Myxosporea	6
3. Ontogenetische Entwicklung in der Klasse Myxosporea	9
3.1. Frühe Entwicklungsstadien	9
3.2. Sporenbildung "Sporogenese"	10
3.2.1. Schalenzellentwicklung bei der Ordnung Bivulvulida Shulman, 1959	12
3.2.2. Polkapselentwicklung	13
3.2.3. Amöboidkeimentwicklung	14
4. Infektionsmodus der Klasse Myxosporea	15
5. Actinosporea	17
5.1. Entwicklung der Actinosporea	20
5.1.1. Die Infektionsphase	20
5.1.2. Die Gametenbildungsphase "Gametogenese"	20
5.1.3. Sporenbildungsphase "Sporogenese"	21
6. Myxobolus spp. Im ZNS	22
III. Eigene Untersuchungen	28
1. Material und Methodik	28
1.A. Untersuchungen auf Myxosporea bei Koppen (Cottus gobio)	28
a- Tötung der Fische	28
b- Blutuntersuchungen	29
c- Nativ-mikroskopische Untersuchungen	29
d- Sporenisolierung	29
e- Nachweisen von jodophiler Substanz in den frischen Sporen	29
f- Histologische Methoden	29
g- Elektronenmikroskopische Methoden	30
h- Rasterelektronenmikroskopische Methoden	30
i- Sporenmessung	

1.B.	Infektionsversuche	31
a.	Versuchsanordnung	31
b.	Versuchsansätze	32
c.	Versuchsablauf und vorgenommene Untersuchungen	35
IV.	Ergebnisse	37
A.	Untersuchungen auf Myxosporea bei der Mühlkoppe (<i>Cottus gobio</i>)	37
1.	Nativ-mikroskopische Untersuchungen der frischen Sporen	38
2.	Nachweis der jodophilen Substanz	39
3.	Nachweis der Schleimhülle	39
4.	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen	39
5.	Histologische Untersuchungen	40
6.	Elektronenmikroskopische Untersuchungen	41
6.1.	Frühes Entwicklungsstadium	41
6.2.	Sporenbildungsstadium "Sporogenese"	41
6.3.	Zelldifferenzierung und deren Anordnung	42
B.	Infektionsversuche	71
Versuch 1:	Direkte Infizierung von Forellenbrut mit Sporen von <i>Myxobolus cerebralis</i>	71
Versuch 2:	Übertragung von <i>Myxobolus cerebralis</i> durch Oligochaeten des Genus <i>Tubifex</i> auf Forellenbrut	71
2.1	Infektion von <i>Tubifex</i> spp. mit <i>M. cerebralis</i>	71
Versuch 2a:	Infektion von Forellenbrut auf dem Wasserweg	73
Versuch 2b:	Orale Infektion der Forellenbrut	75
Versuch 3:	Direkte Infizierung von Mühlkoppen mit <i>Myxobolus cotti</i>	77
Versuch 4:	Übertragung von <i>M. cotti</i> durch Oligochaeten des Genus <i>Tubifex</i> auf Myxosporea-freie Mühlkoppen	77
4.1	Infektion von <i>Tubifex</i> spp. mit <i>M. cotti</i>	77
Versuch 4a:	Übertragung von <i>M. cotti</i> durch den Wasserweg auf Myxosporea-freie Mühlkoppen	79
Versuch 4b:	Übertragung von <i>M. cotti</i> durch den Wasserweg auf gesunde Regenbogenforellen	80

V. Zusammenfassung der Ergebnisse und Diskussion	93
A. Myxosporea bei der Mühlkoppe " <i>Cottus gobio</i> "	93
1. Myxobolus cotti und dessen taxonomische Stellung	93
2. Morphologie	96
2.1. Rasterelektronenmikroskopie	96
2.2. Histologie	97
2.3. Ultrastruktur (TEM) von Myxobolus cotti	98
2.3.1. Sporenbildungsstadium "Sporogenese"	100
2.3.1a. Entwicklung der Klappenzellen	100
2.3.1b. Entwicklung der Polkapselzellen	101
2.3.1c. Entwicklung des Amöboidkeimes	105
B. Aufklärung des Invasionsweges von Myxobolus cerebralis Hofer, 1903, und Myxobolus cotti El-Matbouli und Hoffmann, 1978	107
1. Der Invasionsweg von M. cerebralis	107
2. Der Invasionsweg von M. cotti	114
VI. Zusammenfassung	118
Summary	121
VII. Literaturverzeichnis	123

Einleitung:

Während die Myxosporea als mikroskopisch kleine Parasiten, die hauptsächlich Fische befallen, gut bekannt sind, gehören die Actinosporea zu den bisher am seltensten beschriebenen Parasiten der Oligochaeten. Beide Organismen sind seit ihrer Entdeckung als eigenständige Parasiten in der Literatur aufgeführt. Von der International Commission on Protozoan Nomenclature (Lévine et al., 1980) wurden die zwei Formen als zwei Klassen: Myxosporea und Actinosporea einem Stamm, Myxozoa, zugeordnet. Der Invasionsweg der beiden Klassen blieb jedoch unbekannt. Erst in neuester Zeit gaben Wolf und Markiw (1984) Hinweise auf den Invasionsweg von *M. cerebralis*. Die Autoren stellten fest, daß die Sporen von *M. cerebralis* selbst nicht infektiös für Salmoniden sind, sondern daß sich die Sporen in *Tubifex tubifex* als Zwischenwirt zu *Triactinomyxon gyrosalmo* entwickeln, welche allein die Salmoniden infizieren können. Diese Hypothese wurde bisher von vielen Protozoologen mit Skepsis betrachtet.

Aufgabe dieser Arbeit war daher, Morphologie, taxonomische Stellung und Lebenszyklus von *Myxobolus cotti* El-Matbouli und Hoffmann, 1987, zu erarbeiten. Parallel dazu wurden Transmissionsversuche mit *M. cerebralis* (Wolf und Markiw, 1984) zum ersten Mal mit Erfolg nachvollzogen und für beide Spezies die Entwicklung im Zwischenwirt *Tubifex* dokumentiert.



II. Literaturbesprechung

1. Allgemeine Biologie der Myxosporea

Die Myxosporea sind mikroskopisch kleine Organismen, die kompliziert zusammengesetzte Sporen mit Nematocysten (Polkapseln) bilden. Es handelt sich um Parasiten, die hauptsächlich Fische befallen. Einige Arten wurden bei Amphibien, Reptilien und wirbellosen Tieren beschrieben (Lóm und Noble, 1984).

Die Sporen können je nach Spezies unterschiedliche Gestalt haben. Sie können oval, rund, sichelförmig oder langgezogen mit oder ohne Fortsätzen versehen sein.

Ein Erkennungsschlüssel der Genera ist 1984 von Lóm und Noble entwickelt worden, ein entsprechender für die Spezies ist bei Bykhovskaya (1964) und Shulman (1984) zu finden. Als häufigste Arten finden sich in Deutschland: *Myxobolus* (syn. *Myxosoma*) *cerebralis* Hofer bei Salmoniden; *Henneguya lobosa* Cohn und *Henneguya psorospermica* Thélohan beim Hecht; *Myxobolus exiguus* Thélohan bei Cypriniden; *Thelohanellus piriformis* Thélohan bei Schleien und Rotfedern; *Myxobolus sandrae* Reuss beim Zander; *Myxidium giardi* Cépède beim Aal; *Myxobolus pfeifferi* Thélohan bei der Barbe und *Henneguya zschokkei* Fuhrmann bei Coregonen und Weißfischen (Plehn, 1924, Schäperclaus, 1979, Amlacher, 1986).

Eine Arbeit über die Verbreitung von Myxosporea in drei Biotopen in Bayern, nämlich im Königssee, einigen Fließgewässern und Teichwirtschaften wurde 1985 von El-Matbouli vorgelegt. Eine zusammenfassende Übersicht davon gaben El-Matbouli und Hoffmann (1986).

Vorkommen und Verbreitung dieser Parasiten in einem Biotop wird möglicherweise durch mehrere Faktoren begünstigt, wie Eutrophierung des Gewässers durch Hausabwässer oder Düngemittel und toxische Belastung z.B. durch Lösungsmittel und petro-

chemische Abfallprodukte, die die Kondition und Widerstandsfähigkeit der Fische herabsetzen. Hinzu kommt, daß ein vermehrtes Nahrungsangebot aus der Primärproduktion eine Überpopulation bestimmter Fischarten mit Tendenz zur Verbüttung bewirken kann. Das hat zur Folge, daß Parasiten sich besonders gut in konditionsgeschwächten Wirten vermehren (El-Matbouli und Hoffmann, 1986) und gelegentlich zu Fischsterben führen können (Hoffmann, Schäfer und Braun, 1984; Schäfer und Hoffmann, 1985).

Unter den Myxosporea gibt es neben apathogenen und fakultativ pathogenen auch pathogene Arten, die Verluste verursachen, indem sie entweder zum Tod der Fische führen, deren Wachstum verzögern oder deren Fleisch ungenießbar machen. Sie sind daher für die Fischpathologie von großer Bedeutung. Die meisten Arten sind aber für den Wirt verhältnismäßig harmlos.

2. Systematische Einteilung der Myxosporea

Bütschli, 1881, zählte die Myxosporea zur Klasse der Sporozoa (jetzt Apicomplexa). Für die längste Zeit seit ihrer Entdeckung gehören Myxosporea und Mikrosporea zur Gruppe Cnidosporidia (Doflein, 1901), die der Klasse Apicomplexa angehörten. 1901 wurde den Cnidosporidia als neue Gruppe Actinomyxidia, die von Stolc (1899) entdeckt wurde, hinzugefügt.

In den darauffolgenden Klassifizierungen wurden Myxosporea, Mikrosporea und Actinosporea aufgrund des Vorhandenseins von ausschleuderbaren Pofilamenten und Amöboidkeimen weiterhin als eng verwandt betrachtet (Sprague, 1970).

Aufgrund der Tatsache, daß Myxosporea vielzellige, die Mikro- und Haplosporea dagegen einzellige Sporen bilden, hat Sprague (1970) vorgeschlagen, den Unterstamm der Cnidosporidia fallenzulassen und statt seiner zwei Unterstämme zu bilden, die Myxosporea und die Mikrosporea.

Nach Levine et al. (1980) wurde der frühere Stamm Protozoa in sieben eigenständige Stämme, darunter Mikrospora und

Myxozoa, welche die Klassen Myxosporea und Actinosporea beinhaltet, aufgeteilt. Die bis 1984 weitgehend akzeptierte Klassifizierung der Klasse Myxosporea stammt von Shulman (1966). Ihre Hauptkriterien wurden vom selben Autor sieben Jahre früher vorgeschlagen (Shulman, 1959). Shulman hat seine Klassifizierung hauptsächlich auf die Morphologie der Sporen gestützt. Sein System war eine wichtige revidierte Fassung der Klassifizierung von Kudo (1933) und Tripathi (1948). Die zwei wichtigen und leitenden Kriterien auf dem Niveau der Ordnungen bei der Taxonomie von Shulman waren die Zahl der Valvulae und auf der Ebene der Unterordnungen die Anordnung der Polkapseln im Zusammenhang mit der Randnaht.

Das wachsende Interesse an der Myxosporea, als wichtigen pathogenen Parasiten bei Fischen, hauptsächlich in intensiv betriebener Aquakultur, und die Beobachtung von früheren Entwicklungsstadien (z.B. von Lôm et al., 1965, 1982 und 1983; Markiv et al., 1983; Molnar, 1984) haben zusammen mit den elektronenmikroskopischen und histopathologischen Untersuchungen einen größeren Fortschritt in der Erforschung dieser Parasiten erbracht. Daraufhin wurde die von Shulman (1966) stammende Klassifizierung der Klasse Myxosporea Bütschli, 1881 durch Lôm und Noble (1984) revidiert (siehe Tabelle 1), indem sie sowohl den lichtmikroskopischen Aufbau als auch die Ultrastruktur der Sporen berücksichtigten. Ihre Änderungen entsprechen den Hauptlinien, die von Levine et al. (1980) vorgeschlagen wurden.

Nach Lôm (1985, pers. Mitteilung) wurden ca. 1100 Spezies von Myxosporea unterschieden. Mehr als 1000 Spezies wurden bisher bei Teleostei ("Echte" Knochenfische) beschrieben, 37 Spezies bei Elasmobranchii (Hai-ähnliche), 3 bei Agnatha (Kieferlose), 2 bei Holostei (Knochenganoiden) und je eine einzige Spezies bei Dipnoi (Lungenfische) und Chondrostei (Knorpelganoiden). Bei Amphibien wurden 17 Spezies, bei Reptilien 8 Spezies und bei Wirbellosen 3 Spezies gefunden.

Tabelle 1: Übersicht über die systematische Einteilung der
Myxozoa nach Levine et al. (1980); Lóm, und
Nobeles (1984)

Stamm Myxozoa Grassé, 1960

Klasse Myxosporea Bütschli, 1881

Ordnung Bivalvulida Shulman, 1959

U.-Ordnung Sphaeromyxina

Familie Sphaeromyxidae

U.-Ordnung Varisporina

Familie Myxidiidae Thélohan, 1892

Familie Ortholineidae

Familie Sinuolineidae Shulman, 1959

Familie Naidenova und Zaika, 1969

Familie Ceratomyxidae Doflein, 1899

Familie Sphaerospridae Davis, 1917

Familie Chloromyxidae Thélohan, 1892

Familie Auerbachiiidae Evdokimova, 1973

Familie Alatosporidae Shulman et al., 1979

Familie Parvicapsulidae Shulman, 1953

U.-Ordnung Platysporina Kudo, 1919

Familie Myxobolidae Thélohan, 1892

Ordnung Multivalvulida Shulman, 1959

Familie Trilosporidae Shulman, 1959

Familie Kudoidae Meglitsch, 1960

Familie Pentacapsulidae Naidenova und Zaika, 1970

Familie Hexacapsulidae Shulman, 1959

Klasse Actinosporea

Unterklasse: Actinomyxina Stolc, 1899

Ordnung: Actinomyxida Ord. n.

3. Ontogenetische Entwicklung in der Klasse Myxosporea

Die Entwicklung der Myxosporea ist seit Ende des 19. Jahrhunderts anhand lichtmikroskopischer Untersuchungen vielfach bearbeitet worden. Bis 1959 lagen aber kaum Studien zur Ultrastruktur der Myxosporea vor. 1960 publizierte Grassé eine Arbeit über die Ultrastruktur von Sphaeromyxa bei Seepferdchen (Hippocampus). Das Ziel seiner Untersuchungen war zu zeigen, daß die Myxosporea mehrzellig sind aber keine Gameten bilden. Dies und andere charakteristische Merkmale sprechen gegen die Einordnung dieser Gruppe von Parasiten zu den Metazoa. Ferner schlägt er vor, Myxosporea und Actinosporea aufgrund ihrer mehrzelligen Plasmodien einem eigenständigen Stamm Myxozoa zuzuordnen. Dieser Vorschlag wurde bei der International Commission on Protozoan Nomenclature (Levine et al. 1980) akzeptiert. Später wurde die Ultrastruktur der Klasse Myxosporea von mehreren Autoren studiert (Lôm & Vavra, 1965; Lôm & Puytorac, 1965; Schubert, 1968; Lôm, 1969; Schubert, Sprague & Reinboth, 1975; Current & Janovy, 1976; 1977; 1978; Hulbert, Komourdjian, Moon & Fenwick, 1977; Desser & Paterson 1978; Current, 1979; Current, Janovy & Knight, 1979; Lôm, Dykova & Lhotáková, 1982; Lôm, Körting & Dyková, 1985; Fischer-Scherl, El-Matbouli & Hoffmann, 1986).

Bei der Entwicklung der Myxosporea unterscheidet man verschiedene Stadien: die frühen Entwicklungsstadien und die Sporenbildungsstadien bis zur reifen Spore.

3.1. Frühe Entwicklungsstadien

Die derzeitige Vorstellung ist, daß die beiden haploiden Amöboidkeime, während sie sich noch innerhalb der Spore befinden oder kurz nach dem Austritt in das Wirtsgewebe, zu einem diploiden Kern verschmelzen (Lôm, 1986). Der einkernige diploide Amöboidkeim wächst im infizierten Organ des Wirtes heran und bildet einen Trophozoiten. Die Kerne der Trophozoiten teilen sich vegetativ und bilden generative Zellen (Grassé, 1960).

Die Trophozoiten haben unterschiedliche Größe, Form und Kernzahl, die von Art zu Art verschieden sein können. Der Wachstums- und Vermehrungsphase der Trophozoiten folgt die Bildung einer maximalen Zahl von Sporen. Bei histozoischen Spezies mit zwei Klappen (Valvulae) wie *Myxobolus* können die Trophozoiten enorme Größe erreichen und mehrere Dutzend von generativen Zellen bilden (Lôm und Noble, 1984).

Neben dieser bekannten Art der vegetativen Vermehrung des Amöboidkeims in den infizierten Organen wurde von Lôm et al. (1983) eine andere Vermehrungsart des Amöboidkeims bei *Spaerospora species* innerhalb des Blutkreislaufes und in der Schwimmblase ein so genannter "praesporogonischer Zyklus" beobachtet. Die Autoren vermuten die Existenz praesporogonischer Zyklen auch bei anderen *Myxosporea* Spezies.

Die Trophozoiten haben, von Art zu Art verschieden, ihre Lokalisation in bestimmten Geweben des Wirts. Studien über die Ultrastruktur der Trophozoiten verschiedener *Myxosporea*-Spezies findet man v.a. in der Arbeit von Lôm und Puytorac, 1965.

3.2. Sporenbildung "Sporogenese"

Der Bildung der Trophozoiten folgt die "Sporogonische Phase" mit der Bildung von Pansporoblasten. Nach Kudo (1930) und Noble (1944) kann die Entwicklung zum Pansporoblasten auf zwei Wegen vorsichgehen: entweder durch Differenzierung und Wachsen einer Zelle oder durch Verschmelzung von zwei generativen Kernen oder Zellen.

Lôm und Puytorac (1965) studierten die Ultrastruktur während der Sporenbildungsphase bei *Henneguya psorospermica* Thélohan, 1895; *Myxidium lieberkühne* Bütschli, 1882; *Zschokkella nova* Klokacewa, 1914; *Chloromyxum cristatum* Léger, 1906 und *Myxobolus* sp. Bütschli, 1882 und fanden, daß der Pansporoblast bei *Myxosporea* Spezies, die große Trophozoiten bilden, durch die Vereinigung von zwei Zellen entsteht. Während dabei eine Zelle

die andere umhüllt, bildet die umhüllte Zelle durch Kernvermehrung und -differenzierung einen Pansporoblasten. Diese Erklärung für die Bildung der Pansporoblasten wurde später von Schubert (1968) bei *Henneguya pinnae* Schubert und von Current (1979) bei *Henneguya adiposa* Minchew bestätigt. Weiter unterstützten Löm et al. (1982) diese Erklärung mit einer Arbeit über den Ursprung des Pansporoblasten von *Sphaerospora renicola* Dykova & Löm, 1982, jedoch mit einer anderen Nomenklatur. Sie beschrieben den Beginn der Sporogenese bei *Sphaerospora renicola* als einfachen Vorgang, indem innerhalb eines Pseudoplasmodiums mehrere Zellen entstehen und eine oder zwei Sporen bilden. Weiter meinen sie, daß dieses *Sphaerospora*-Pseudoplasmodium mit den Trophozoiten von *Myxobolus* vergleichbar sei.

Andere Autoren (Georgevitsch, 1935; Shulman, 1966; Uspenskaya, 1981) berichteten, daß die als "Sporogonie" bezeichnete Sporenbildungsphase mit der Zweiteilung einer einzigen Zelle beginnt, wobei eine Zelle Umhüllungsfunktion hat und die andere den Sporoblasten bildet. Diese Meinung wurde durch elektronenmikroskopische Untersuchungen von Desser et al. (1983) unterstützt.

Molnar (1985 und 1986) revidierte diese Erklärungen über den Beginn der Sporogonie anhand von Untersuchungen mit *Sphaerospora renicola* und *Hoferellus cyprini* Doflein 1898 sowie über frühere Entwicklungsstadien von *Myxosporea*. Er teilte mit, daß die Sporogonie nicht mit der Verschmelzung von zwei generativen Zellen, sondern durch ungleiche Teilung (unequal division "i.e. endogenous proliferation") einer einzigen Zelle beginnt. Weiter berichtete er, daß das früheste Entwicklungsstadium von *Sphaerospora renicola* ein einzelliger Trophozoit als "Mutterzelle" ist, welche ihre Entwicklung in der Schwimmblase beginnt. In diesem einzelligen Trophozoiten bildet sich durch innere Teilung (internal cleavage) eine Sekundärzelle. Durch weitere Teilungen können sich zwanzig bis vierzig Sekundärzellen innerhalb der Mutterzelle bilden. Die Sekundärzellen vermehren sich durch direkte Kernteilung, die Molnar als "Amitose" auffaßt. Parallel zum Wachstum der Mutterzelle und der Bildung der sekundären

Zellen findet eine endogene Vermehrung statt, und es entstehen im Zytoplasma der Sekundärzellen je zwei Tertiärzellen. Dieser Sekundärzelle mit den zwei Tertiärzellen entspricht das Pseudoplasmodium mit den zwei Sporoblasten von *Sphaerospora renicola* in den Lumina der Nierentubuli. Das Pseudoplasmodium wurde dabei sowohl bei *Sphaerospora renicola* (Molnar, 1986) als auch bei *Sphaerospora cristata* Shulman (El-Matbouli & Hoffmann, 1986) durch das Blut in die Glomerula und von dort über die Bowmanische Kapsel ins Lumen der Nierentubuli transportiert.

Die sporenbildende Zelle innerhalb eines Pansporoblasten teilt sich und ergibt die Sporoblastzellen mit je zwei Schalenzellen, zwei Polkapselzellen und eine zweikernige oder zwei einkernige Amöboidkeimzellen.

Die Annahme, daß während der Entwicklung von *Myxosporea* ein Befruchtungsvorgang stattfindet, wurde von Uspenskaya (1981) durch cytophotometrische Untersuchungen widerlegt. Sie fand, daß die vegetativen Kerne innerhalb der Trophozoiten polyploid, häufig tetraploid sind, während die "generativen" Zellen diploid sind. Weiter beschrieb sie, daß die diploiden Kerne der generativen Zellen sich während der Sporogenese mitotisch teilen und nur die letzte Teilung im Sporoblasten eine Reduktionsteilung ist. Dadurch entstehen haploide Sporoblastzellen: zwei Schalenzellen, zwei Polkapselzellen und zwei Amöboidkeimzellen. Die umhüllende Pansporoblastzelle hingegen bleibt diploid.

3.2.1. Schalenzellentwicklung bei der Ordnung Bivalvulida Shulman, 1959

Die zwei Schalenzellen werden erst als solche erkennbar, wenn sie beginnen, sich um die vier anderen sporogonischen Zellen auszudehnen. Sie nehmen ihre endgültige Position in dem Sporoblasten im Moment der Bildung des Polkapsel-Primordiums innerhalb der Polkapsel ein (Löf, 1969).

Schubert (1968) fand Stadien bei *Henneguya pinnae* Schubert, in denen bereits deutlich ausgebildete Schalenzellen vorhanden sind, der Amöboidkeim aber teilweise noch direkt an die Hüllzelle

grenzt. Während er Golgi-Apparate in den Schalenzellen beobachtete, berichteten Lôm und Puytorac (1965) bei *Myxidium lieberkühni* Bütschli, *Zschokkella nova* Klokačewa, *Henneguya psorospermica* Thélohan, *Myxobolus* sp. und *Chloromyxum cristatum* Léger über das Vorhandensein von Mikrotubuli in der Außenmembran der Schalenzellen.

Im Laufe der weiteren Entwicklung schrumpfen die Zellorganellen der Schalenzellen. In den reifenden Sporen erscheinen die Schalenzellen im Längs- und Querschnitt gewellt. Die Schalenzellen der reifen Sporen sind elektronenoptisch sehr dunkel und meistens ungewellt (Lôm und Puytorac, 1965; Schubert, 1968; Mitchell et al., 1985).

3.2.2. Polkapselentwicklung

Die Entwicklung der Polkapseln bei Myxosporea erregt die Aufmerksamkeit seit Ende des letzten Jahrhunderts. Bütschli (1882) berichtete über die Beobachtung von einem Filament innerhalb des Polkapsel-Primordiums von *Myxidium lieberkühni* Bütschli. Auerbach (1909) beschrieb das Vorhandensein von großen sphärischen Körpern verbunden mit langen spiralisierten Schläuchen innerhalb der Polkapselzelle von *Zschokkella hildae* Auerbach. Einige Jahre später schilderte Stempell (1919), daß diese langen spiralisierten Schläuche sich später in den sphärischen Körper zurückziehen, um die Polfilamente zu bilden. Lôm und Vávra (1965) veröffentlichten eine Arbeit über die verschiedenen Entwicklungsstadien der Polkapsel. Lôm und Puytorac (1965) stellten ein umfassendes Schema zur Entwicklung der Polkapsel vor. Das erste Stadium der Polkapselentwicklung innerhalb der Polkapselzelle ist ein keulenförmiger Körper. Über den Ursprung dieser Körper gibt es verschiedene Meinungen. Während Lôm (1969) vermutet, daß dieser Körper bei *Sphaeromyxa* sp. aus dem glatten endoplasmatischen Retikulum oder den Golgi-Apparaten in der Polkapselzelle entsteht, nehmen Schubert (1968) und Desser et al. (1978) an, daß der Ursprung dieser Körper im rauen endoplasmatischen Retikulum liege.

Im Laufe der weiteren Entwicklung wächst dieser keulenförmige Körper und bildet das sphärische Polkapsel-Primordium mit einem Schlauch. Dieser Schlauch wird länger und verläuft in Windungen um das Primordium. Daraufhin erscheint der Ursprung des Polfilamentes innerhalb dieses Schlauches und wächst allmählich in das Primordium ein. Während dessen wird der Schlauch kürzer und verschwindet vollständig, woraufhin die Polkapsel ihre endgültige Gestalt annimmt und das Polfilament sich in ihr aufspiralisiert (Löm und Puyforac, 1965).

Nach Löm und Vavra (1965) ist die Entwicklung der Polkapselzellen von den Myxosporea mit der Entwicklung der Nematocysten der Cnidarier identisch.

3.2.3. Amöboidkeimentwicklung

Der Amöboidkeim kann bei manchen Genera (wie Myxobolus, Thélohanellus, Henneguya) eine zweikernige Zelle sein (Löm und Puyforac, 1965; Schubert, 1968; Dessler et al. 1983; El-Matbouli et al., 1987). Bei anderen Genera wie Sphaerospora und Ceratomyxa ist der Amöboidkeim zweizellig (Yamamota und Sanders, 1979; Löm et al., 1982).

Das Zytoplasma der Amöboidkeimzelle ist durch das Vorhandensein von kleinen dunklen Einschlüssen sehr auffällig. Wobei auch eine unterschiedliche Menge von B-Glycogen Partikelchen, die manchmal eine runde Vakuole bilden, zu finden sind.

Die Sporoblastzellen, welche der Amöboidkeim in der reifen Spore bildet, ist reich an Ribosomen, während Golgi-Apparate in geringerer Zahl vorhanden sind. Mitochondrien und endoplasmatisches Retikulum sind in diesem Stadium in großer Zahl zu finden.

Während im reifenden Sporoblasten kein endoplasmatisches Retikulum mehr vorhanden ist, nehmen die Ribosomen an Zahl zu und machen den Amöboidkeim elektronenoptisch sehr dicht (Löm, 1969).

4. Infektionsmodus der Klasse Myxosporea

Die zahlreichen und oft widersprüchlichen Beobachtungen der sporogenetischen Phase beschäftigen sich alle lediglich mit dem Schlußstadium der Infektion bei spontan infizierten Fischen. Die anderen Phasen des Lebenszyklus sind immer noch hypothetisch. Bei allen bisher durchgeführten Versuchen über den Infektionsmodus innerhalb der Klasse Myxosporea wurde nur mit *Myxosoma cerebrales* Hofer (jetzt *Myxobolus cerebrales* Löm & Noble, 1984), dem Erreger der Drehkrankheit der Regenbogenforelle, gearbeitet.

Siau (1977) hat den Amöboidkeim von *Myxobolus exiguus* Thélohan, 1895, auf einer Zellkultur bis zur Bildung achtzelliger Stadien beobachtet.

Hoffman & Putz (1970) berichteten, daß von 28 in acht Jahren durchgeführten Infektionsversuchen nur 7 positiv waren. Hoffman & Putz (1969); Putz (1970) und Putz & Herman (1970) vermuteten, daß die Sporen von *Myxosoma cerebrales* zur Reifung 3 1/2 bis 6 Monate im Schlamm verbringen müssen und erst danach infektiionsfähig werden. Ferner meinten sie, daß das Infektionsstadium bei der Anwendung von 12 µm Wasserfiltern zurückgehalten wird.

Bei der Haltung von Forellenbrut in einem Becken mit Schlamm aus einem mit *Myxosoma cerebrales* infizierten Teich gelang es Schäperclaus (1931) und Halliday (1973), eine Infektion zu erzeugen.

Aufgrund der vielen Fehlschläge, Fische mit frischen Sporen zu infizieren, wurde die Hypothese, daß die Sporen reifen müssen bevor sie infektiionsfähig werden, für die gesamte Klasse der Myxosporea als zutreffend angenommen (Halliday, 1976; Schäperclaus, 1979 und Löm, 1986). Kudo (1922) und Erdman (1971) schreiben, daß die Fische die gereiften Sporen über das Wasser durch Zufall per os aufnehmen. Im Verdauungstrakt und unter dem Einfluß von Verdauungsfermenten schießen die Sporen ihre Polkapseln ab

und heften sich mit Hilfe der ausgestülpten Pofilamente (Kudo, 1930) in der Darmwand an. Danach öffnen sich die Sporenschalen entlang der Nahtlinie und aus den Sporen schlüpfen die beweglichen Amöboidkeime. Durch vegetative und sporongenetische Entwicklung im Wirtsgewebe bilden sich die Sporen. Plehn (1904), Löm (1964) und Hoffman et al. (1965) haben festgestellt, daß unspezifische Säuren, Glycerin, Alkohol, Äther und künstlich hergestellte Verdauungsfermente keine Wirkung auf die Ausstülpung der Polfilamente haben, während 1 bis 2 % Kaliumhydroxid diese auslösen (Meyers, et al., 1970).

Während O'Grodnick und Gustafson (1974) keine transovariale Übertragung des Parasiten beweisen konnten, vermuten Schäperclaus (1931), Keiz (1964) und Putz und Hoffman (1970), daß lebensfähige Sporen mit dem Ei übertragbar sind.

Uspenskaya (1978) und Prihoda (1983) berichteten über einen gelungenen Versuch, indem sie Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) mit Drehkrankheit infiziert haben. In ihren Versuchen ließen sie Sporen von *Myxobolus cerebralis* im Schlamm für ca. 4 Monate reifen. Danach wurden gesunde Regenbogenforellen dazu eingesetzt. In beiden Arbeiten wurden keine Angaben über die Natur des verwendeten Schlammes und seine Fauna gemacht. Nach Uspenskaya (mündliche Mitteilung im 2nd International Symposium of Ichthyoparasitology, 1987) ist es unbekannt, ob sich im Schlamm vom Infektionsversuch mit *Myxobolus cerebralis*, den sie 1978 durchgeführt hat, Oligochaeten befanden.

Daniels et al. (1976) publizierten eine Arbeit über die Beobachtung von unidentifizierbaren Protozoen im Kiemenepithel und in der Epidermis von viermonatigen Regenbogenforellen, die ein bis acht Stunden lang im Wasser aus einem mit *Myxobolus cerebralis* infizierten Teich gehalten wurden. Sie weisen aber darauf hin, daß diese intrazellulären Protozoen vermutlich keine Stadien von *Myxobolus cerebralis* darstellen, sondern einen eigenständigen unbekannten Protozoen.

Markiw und Wolf (1983) kamen bei Infektionsversuchen zu dem Schluß, daß die Infektion mit *Myxobolus cerebralis* mit einem Oligochaeten des Genus *Tubifex* als Zwischenwirt verbunden ist. Ein Jahr später ergänzten sie (Wolf et al., 1984), daß für die Infektion mit *Myxobolus cerebralis* nicht nur ein Zwischenwirt erforderlich ist, sondern daß sich die Sporen in den Oligochaeten zu Actinosporea des Genus *Triactinomyxon* verwandeln, welche allein die Salmoniden infizieren können. Nach Infektionsversuchen mit verschiedenen *Tubifex* Spezies fanden Wolf et al. (1986), daß vermutlich nur *Tubifex tubifex* der Zwischenwirt für *Myxobolus cerebralis* ist.

5. Actinosporea

Die Actinosporea sind Sporen von eigenartiger, drei-radial-symmetrischer Gestalt und gehören zu den seltenen Parasiten der Oligochaeten. Sie sind erstmals von Stolč im Jahre 1889 in verschiedenen Oligochaeten gefunden worden, die er in der Uferzone eines Seitenarmes der Moldau (Vltava) in Prag gesammelt hatte. Er hat sie damals zwischen die echten Metazoen und die Protozoen als "zweischichtige Organismen" (two-layered organism) als neue Gruppe den Mesozoen zugeordnet. Dabei wies er auf ihre nahe Verwandtschaft zu den Myxosporea-Sporen hin mit der Bemerkung, daß die Actinosporea richtige Gewebszellen darstellen, während die Myxosporea nur ein Teil einzelliger Körper sind.

Stolč (1899) beschrieb 3 Gattungen: *Synactinomyxon*, *Triactinomyxon* und *Hexactinomyxon*. Caullery und Mesnil (1905) fanden das Genus *Sphaeractinomyxon* und beschrieben seine Entwicklung. Ikeda (1912) berichtete über ein neues Genus: *Tetractinomyxon* in der Leibeshöhle von *Petalostoma minutum* (Sipunculidae). Danach wurden von mehreren Autoren noch viele andere Arten und Gattungen beschrieben (siehe Tabelle 2).

Bisher wurden 28 Arten von Actinosporea klassifiziert. Sie sind in 13 Gattungen eingeordnet, 2 Arten kommen bei Sipunculidae vor, alle anderen bei Oligochaeten (Löm, 1985, pers. Mitteilung).

Bis 1980 gehörten die Actinosporea zum Unterstamm Cnidosporea, Stamm Sporozoa. Levine et al. (1980) haben die Actinosporea zusammen mit der Myxosporea als zwei Klassen in den Stamm Myxozoa eingeordnet (siehe Tabelle 1).

Der Pansporocyst der Actinosporea enthält immer 8 Sporen (Janiszewska, 1955 und 1957). Die Sporenwand besteht aus drei modifizierten Schalen (Eisporalzellen). Die meisten Gattungen tragen hinten Fortsätze, die innerhalb des Wirtes gefaltet sind. Sobald die Parasiten aus dem Wirt freigesetzt werden, werden sie osmotisch entfaltet und erhalten eine ankerförmige Gestalt. Diese Fortsätze verleihen den Sporen eine erhöhte Schwimmfähigkeit, die es ihnen ermöglicht, sich über große Flächen im Wasser zu verbreiten (Janiszewska, 1955). Nach Janiszewska (1955) bilden die Sporen von *Siedleckiella antonii* Janiszewska mit Hilfe ihrer Fortsätze netzförmige Gebilde und erhöhen damit ihre Flotation im Wasser. Alle Sporen der Actinosporea haben vorne drei Polkapseln von gleicher Struktur wie die der Myxosporea. Der Amöboidkeim befindet sich in einer Höhlung zwischen den Schalenzellen. Er kann eine zweikernige Zelle sein, wie bei *Tetractinomyxon Ikedea*, 1912. Bei manchen Gattungen kann der Amöboidkeim 1 bis 128 einkernige Zellen beinhalten. Nach Stolc (1899) hat der Amöboidkeim von *Synactinomyxon tubificis* Stolc mehrere Kerne, die paarweise mit einem Plasmodiumkern angeordnet sind. Die Hauptkriterien der Klassifikation sind einerseits die äußere Gestalt der Sporen und andererseits die Anzahl der Zellen des Amöboidkeims.

Tabelle 2: Übersicht über die frühere systematische Einteilung der Actinomyxidia (nach Janiszewska, 1955)

Stamm: Protozoa

Klasse: Sporozoa

Unterklasse: Cnidosporidia

Ordnung: Actinomyxidia

- I. Genus: Tetractinomyxon Ikeda, 1912
 - 1- Tetractinomyxon intermedium Ikeda, 1912
 - 2- Tetractinomyxon irregulare Ikeda, 1912
- II. Genus: Sphaeractinomyxon Caullery-Mesnil, 1905
 - 1- Sphaeractinomyxon stolci Caullery-Mesnil, 1905
 - 2- Sphaeractinomyxon gigas Granata, 1923
 - 3- Sphaeractinomyxon danicae Georgevič, 1938
 - 4- Sphaeractinomyxon ilyodrilili Jirovec, 1940
- III. Genus: Neoactinomyxon Granata, 1922
 - 1- Neoactinomyxon globosum Granata, 1922
- IV. Genus: Synactinomyxon Stolc, 1899
 - 1- Synactinomyxon Stolc, 1899
- V. Genus: Guyénotia Naville, 1930
 - 1- Guyénotia sphaerulosa Naville, 1930
- VI. Genus: Raabeia g.n.
 - 1- Raabeia gorlicensis g. n., Sp. n.
- VII. Genus: Siedleckiella Janiszewska, 1953
 - 1- Siedleckiella silesica Janiszewska, 1952
 - 2- Siedleckiella antonii Janiszewska, 1955
- VIII. Genus: Triactinomyxon Stolc, 1899
 - 1- Triactinomyxon ignotum Stolc, 1899
 - 2- Triactinomyxon magnum Granata, 1923
 - 3- Triactinomyxon légeri Mackinnon et Adam, 1904
 - 4- Triactinomyxon dubium Granata, 1924
 - 5- Triactinomyxon mrázeki Mackinnon et Adam, 1924
 - 6- Triactinomyxon ohridensis Georgevic, 1940
 - 7- Triactinomyxon petri Georgevic, 1940
- IX. Genus: Hexactinomyxon Stolc, 1899
 - 1- Hexactinomyxon psammoryctis Stolc, 1899
 - 2- Hexactinomyxon hedvigi Sp. n.

5.1. Entwicklung der Actinosporea

Die Entwicklung der Actinosporea ist bisher nur unvollständig bekannt. Caullery et al. (1905); Mackinnon et al. (1924) und Janiszewska (1955) berichteten über drei erkennbare Phasen der Entwicklung:

- 1) Die Infektionsphase oder Vegetativphase
- 2) Die Gametenbildungsphase "Gametogenese"
- 3) Die Sporenbildungsphase "Sporogenese"

5.1.1. Die Infektionsphase

Nach Caullery et al. (1905) und Janiszewska (1955) sind alle Versuche, Oligochaeten mit Actinosporea zu infizieren, mißlungen. Daher hatten die Autoren angenommen, daß die Sporen eine bestimmte Reifungsphase außerhalb des Wirtes erreichen müssen oder sich in ein Ruhestadium verwandeln und erst danach infektiösfähig werden.

Léger (1904) und Mackinnon und Adam (1924) vermuteten eine Autoinfektion, nachdem sie freie Amöboidkeime im Darmkanal des Wirtes beobachtet haben. Caullery und Mesnil (1905) meinten, daß das Infektionsgeschehen bei Actinosporea ähnlich dem von Myxosporea abläuft. Nachdem die Sporen vom Wirt aufgenommen wurden, schießen sie ihre Polfilamente ab, und die Schalen öffnen sich. Danach schlüpft der Amöboid-bewegliche Keim aus.

Marques und Ormiers (1981) berichteten, daß die Sporen von Synactinomyxon longicauda ihre Schalen spontan im Wasser öffnen. Der ausgeschlüpfte Amöboidkeim kann für bestimmte Zeit im Wasser überleben. Weiter vermuteten sie eine mögliche Infektion der Tubifiziden durch die Aufnahme von nackten Amöboidkeimen.

5.1.2. Die Gametenbildungsphase "Gametogenese"

Die Beobachtungen dieser Phase sind mangelhaft, ihre Beschreibung ist mehr hypothetisch als konkret nachgewiesen.

Ikeda (1912) schrieb, daß der Amöboidkeim (syn. Sporozoit) vom Tetractinomyxon immer zweikernig ist. Er beobachtete den Amöboidkeim dieser Art im Gewebe des Wirtes und fand nur Gebilde mit zwei Kernen, die eine unterschiedliche Größe haben. Weiter beschrieb er, daß die zwei Kerne verschmelzen, sich zweimal teilen und ein vierzelliges Stadium bilden. Die zwei kleinen bilden die Umhüllung des Pansporoblasten und die zwei großen die Gameten. Obwohl die Sporen von Sphaeractinomyxon stolci Caullery und Mesnil, 1905, einen Amöboidkeim mit einer großen Zahl einkerniger Elemente besitzen, haben die Autoren zweikernige Stadien im Wirt (*Clitellio arenarius* und *Hemitubifex benedi*) beobachtet. Über die Herkunft dieser zweikernigen Stadien wurden zwei Hypothesen aufgestellt:

- 1) durch Plasmogamie der einkernigen Amöboidkeimzelle
- 2) durch Kernteilung der Amöboidkeimzelle.

Andere Autoren, wie Lèger (1904) und Mackinnon und Adam (1924), fanden am Infektionsbeginn nur zweikernige Stadien. Nach Georgevic (1940) entsteht das zweikernige Stadium durch Schizogonie. Bei manchen Gattungen, wie *Guyénotia* und *Triactinomyxon magnum*, teilen sich die zwei umhüllenden Zellen des Pansporoblasten ein weiteres Mal und bilden vier umhüllende Pansporoblastzellen (Janiszewska, 1955). Die zwei inneren Zellen teilen sich weiter und bilden 16 haploide Zellen "Gameten", die 8 Zygoten bilden (Lèger, 1904 und Mackinnon und Adam, 1924).

5.1.3. Sporenbildungsphase "Sporogenese"

Nach Janiszewska (1955 und 1957) scheinen die Grundzüge des Ablaufs dieser Phase bei allen Actinosporea gleich zu sein. Die Zygote teilt sich dreimal und ergibt ein vierzelliges Stadium. Drei Zellen teilen sich weiter und ergeben drei Schalenzellen und drei Polkapselzellen. Die vierte Zelle bildet den Amöboidkeim. Am Ende dieser Vorgänge wandert der Amöboidkeim in die Sporenhöhlung und wird dort von den Sporenschalen unterhalb der drei Polkapseln eingeschlossen.

6. Myxobolus spp. im ZNS

Während man schon seit Anfang des letzten Jahrhunderts aus fast allen Geweben der Fische Myxosporea kannte, sind sie erst in den 90er Jahren des letzten Jahrhunderts als Parasiten des Nervensystems beschrieben worden.

Der erste Fall wurde von Pfeiffer im Jahre 1892 bei Äschen (*Thymallus vulgaris*) der Ilm und Saale festgestellt. Er beschrieb eine Art des Genus *Myxobolus* aus dem Rückenmark der Äsche. Da er der Meinung war, daß sie identisch mit *Myxobolus mülleri* Bütschli, 1882, sei, hat er sie nicht benannt.

Der zweite Fall einer typischen Nervengewebsinfektion durch Myxosporea wurde von Schuberg und Schröder (1905) entdeckt. Es handelt sich um *Myxobolus neurobius* Schuberg und Schröder im Rückenmark der Forelle. Die Parasitenanhäufungen bilden Zysten, die zwischen Schwannscher Scheide und Markscheide liegen. Diese Zysten können rundlich oder langgestreckt sein und befinden sich in großer Zahl im Rückenmark. Die Autoren haben weder Ansammlungen von Leukozyten noch Wucherungen des Wirtsgewebes beobachtet, sondern stets nur eine mechanische Auseinanderdrängung der Nervenfasern.

In beiden Fällen, bei Äschen und Forellen, erwies sich das Gehirn als frei von Myxosporea. Schuberg und Schröder (1995) meinten, daß wegen der vollständigen Übereinstimmung des Vorkommens innerhalb der Nerven die Annahme nahe läge, daß die von ihnen beschriebene *Myxobolus neurobius* mit dem von Pfeiffer bei der Äsche beobachteten identisch seien, um so mehr, als auch die nahe Verwandtschaft der Äsche und Forelle dafür sprach. Plehn (1924) und Schäperclaus (1979) führten *Myxobolus neurobius* Schuberg und Schröder als Parasit des Nervensystems bei Forellen und Äschen auf.

Die Sporen sind 10 bis 12 μm lang und 8 μm breit, haben eine ziemlich dicke Schale, die an der Randnaht zu einem leistenartigen Saum ausgezogen ist; die Polkapseln sind 6 bis 7 μm lang; eine große jodophile Vakuole ist vorhanden.

Die zweite Art des Genus *Myxobolus* im ZNS wurde von Mulsow (1911) bei Karpfen (*Cyprinus carpio*) beschrieben. Es handelt sich um *Lentospora encephalica* Mulsow (syn. *Myxobolus encephalicus* Löm und Noble, 1984) im Gehirn des Karpfens, und zwar ausschließlich in dessen Blutgefäßen. Stark infizierte Karpfenbrut zeigt Bewegungsstörungen, wie im Kreise schwimmen oder stundenlanges regungsloses auf dem Kopf stehen (Mulsow, 1911). Dykova et al. (1986) beschrieben eine Gehirninfection mit *Myxobolus encephalicus* bei Karpfenbrut. Sie berichteten, daß die Blutgefäße in Meningen und im Gehirn durch die Entwicklungsstadien von *Myxobolus encephalicus* einerseits vergrößert werden und ihre Lumina andererseits verengt sind. Eine Obliteration der Gefäße kommt auch vor. Weiter beschreiben sie eine durch Anhaften der früheren Entwicklungsstadien am Endothelium der Blutgefäße hervorgerufene Hyperplasie der Endothelzellen, welche auch nach der Abtrennung dieser Entwicklungsstadien fortbesteht.

Die Sporen variieren in ihrer Form und Größe. Sie können oval, kreisförmig und rund sein; ihre Länge beträgt 6,6 bis 12 μm ; ihre Breite 6,3 bis 10 μm . Die Polkapseln sind gleich groß und haben 5 bis 6 Polfilamentswindungen. Die Sporen besitzen keine jodophile Vakuole.

Bond (1938) berichtete über zwei *Myxobolus* Arten aus dem Gehirn des Blaubandkärpflings (*Fundulus heteroclitus*): *Myxobolus subtecalis* Bond und *Myxobolus bileanatum* Bond.

Myxobolus subtecalis kommt hauptsächlich im subtecalen Raum des Lobus opticus vor und dringt öfter in den Lobus opticus ein. Ferner berichtete Bond, daß diese Art auch im Bindegewebe zwischen den Strahlen an der Basis der Flossen und in Glomerula

der Niere vorkommt. Der Pansporoblast ist fast immer zweisporig, gelegentlich wurden aber auch einsporige und mehrsporige beobachtet. Die Sporen sind in der Aufsicht birnenförmig, von der Seite gesehen linsenförmig. Die Schalen sind nicht symmetrisch. Die Sporen haben am Hinterende drei Ränder, die an der Basis breit aufsitzen und sich zur Mitte der Spore hin verschmälern. Der mittlere Rand ist besonders stark ausgebildet und verläuft bis zur Mitte der Spore. Die anderen zwei schmälere Ränder erstrecken sich bis zum vorderen Teil der Spore. Die zwei Polkapseln sind auch birnenförmig und länglich, wobei eine immer länger als die andere ist. Das Pofilament bildet 11 oder 12 Windungen innerhalb der Polkapsel; eine jodophile Vakuole ist nicht vorhanden. Die Sporen haben eine Länge von 15 bis 18 μm , eine Breite von 6,5 bis 8 μm und eine Dicke von 6 μm . Die Polkapseln sind 7 bis 8 μm lang und 2 μm breit. Die Sporen von *Myxobolus bilineatus* Bond kommen im Ventriculus und Subtectum des Gehirns und im Glomerulum der Niere vor. Der Pansporoblast ist ein-, zwei- oder mehrsporig. Die Sporen sind oval, Hinter- und Vorderende sind rundlich. Die Randnaht ist sehr dick (1,5 bis 2,5 μm); die zwei Polkapseln sind kugelförmig und beinhalten 7 bis 9 Windungen des Pofilaments; eine große jodophile Vakuole ist nachweisbar. Die Sporen sind 10 bis 12 μm lang, 9 bis 10 μm breit und 10 bis 12 μm dick. Über klinische Folgen des Befalles mit beiden Arten im Gehirn wurde nicht berichtet.

Yasutake und Wood (1957) beschrieben *Myxobolus kisutchi* aus dem Rückenmark von Conolachsen (*Oncorhynchus kisutch*). Die Sporen sind oval und haben zwei birnenförmige Polkapseln. Sie sind 7 bis 8,5 μm lang und 3,5 bis 3,8 μm breit. Die Polkapseln sind 3,8 bis 5,5 μm lang. Entwicklungsstadien dieser Art wurden nicht beobachtet.

Nach Wyatt (1978) wurde *Myxobolus kisutchi* Yasutake und Wood auch im Gehirn von Chinook-Lachsen (*Oncorhynchus tshawytscha*) beobachtet. In beiden Arbeiten wurden keine Angaben über klinische Erscheinungen gemacht.

Kent und Hoffman (1984) beschrieben *Myxobolus inaequus* Kent & Hoffman aus dem Gehirn des grünen Messerfisches (*Eigenmannia virescens*). Die Sporen wurden am häufigsten in der Medulla oblongata und gelegentlich im Cerebellum beobachtet. Sie liegen in Nestern zwischen den Nervenfasern ohne Gewebsreaktion. Trophozoiten oder Entwicklungsstadien wurden von den Autoren nicht gesehen. Die Sporen sind birnenförmig und haben glatte Schalen. Die Randnaht ist symmetrisch in der Höhe der beiden Polkapseln und weist keine Verdickung auf. Ein sehr kleiner Vorsprung zwischen den beiden Polkapseln ist vorhanden. Die beiden Polkapseln sind extrem unterschiedlich in ihrer Größe und haben eine längliche Gestalt. Die Sporen sind 19,8 µm lang, 8,6 µm breit und 8 µm dick. Die große Polkapsel ist 11,8 µm lang, die kleine 4,8 µm.

Mitchell, Seymour und Gamble (1985) entdeckten *Myxobolus hendricksoni* im Gehirn von Fathead Minnows (*Pimephales promelas Rafinesque*). Die Sporen bilden makroskopisch sichtbare Zysten von 0,1 bis 1,5 mm Durchmesser und drängen das Hirngewebe auseinander. Sie sind manchmal von einer dünnen Bindegewebskapsel umgeben. Die Trophozoiten befinden sich im Lobus opticus, Cerebellum und im Ventrikel. Die Sporenhaufen im Bindegewebe der Meningen sind begleitet von einer lockeren Infiltration mit Monozyten, Fibrozyten und Rodlet Zellen. Die Sporen sind oval oder sphärisch mit 4 oder 5 Verdickungen in der Schale. Die frischen Sporen haben eine Länge von 13,1 µm, eine Breite von 12,3 µm und sind 8,6 µm dick. Die Polkapseln sind 6,6 µm lang und 3,6 µm breit.

Nach Gonzalez-Lanza et al. (1984) kommt *Myxobolus farionus* Gonzales-Lanza nur im Rückenmark und Gehirn von Bachforellen (*Salmo trutta*) vor. Die Sporen sind meistens oval, gelegentlich können sie birnenförmig oder elliptisch sein. Die Polkapseln sind birnenförmig und länglich und beinhalten 8 bis 9 Windungen der Polfilamente. Die Sporen sind 9,15 µm lang und 6,67 µm breit; die Polkapseln sind 4,85 µm lang; eine große jodophile Vakuole ist nachweisbar.

Mitchell, Seymour und Gamble (1985) führten drei weitere Myxobolus Spezies, die das zentrale Nervensystem befallen, auf:

- 1) Myxobolus cephalis Iversen bei der Meeräsche (*Mugil cephalus*)
- 2) Myxobolus lairdi Moser beim Grenadierfisch (*Caryphaenoides ropestris*)
- 3) Myxobolus neurophila Guilfor beim Barsch (*Perca fluviatilis*)

Eine Übersicht über die im Zentralnervensystem vorkommende Spezies des Genus Myxobolus ist in Tabelle 3 wiedergegeben.

Tabelle 3: Übersicht über die Myxosporea spp. des Genus Myxobolus,
die das zentrale Nervensystem von Teleostern befallen (k.A. = keine Angabe)

Myxosporea spp.	Wirt	Lokalisation	Länge der Sporen (µm)	Breite der Sporen (µm)	Länge der Polkapsel (µm)	jodophile Vakuole	Schleimhülle (µm)
Myxobolus neurobius Schuberg und Schröder 1905	Salmoniden	Rückenmark	10 - 12	8	6 - 7	+	k.A.
Myxobolus encephalicus Mulsow 1911	Karpfen "Cyprinus carpio"	Gehirn	6,6-12	6,3-10	-	-	-
Myxobolus subtecalis Bond, 1938	Blaubandkarpfing "Fundulus heteroclitus"	Gehirn- Niere - Flossen	15 - 18	6,5-8	-	-	-
Myxobolus bilineatus Bond, 1938	"	Gehirn - Niere	10 - 12	9 - 10	-	+	k.A.
Myxobolus kisutchi Yasutake u. Wood, 1957	Silberlachs "Oncorhynchus kisutch"	Rückenmark	7 - 8,5	3,4-3,8	-	+	k.A.
Myxobolus inaequus Kent u. Hoffman, 1984	"Eigenmannia virescens"	Gehirn	19,8	8,6	die große 11,8 die kleine 4,8	-	k.A.
Myxobolus farionis Gonzales-Lanza, 1984	Bachforelle "Salmo trutta"	Gehirn und Rückenmark	9,15	6,67	4,85	+	0,20 vorn 1,15 hinten
Myxobolus hendricksoni Mitchell, Seymour & Gamble, 1985	Fettkopf Elritze "Pimephales promelas rafinesque"	Gehirn	13,1	12,3	6,6	-	1,0

III. Eigene Untersuchungen

1. Material und Methodik

1. A: Untersuchungen auf Myxosporea bei Koppfen (Cotto gobio)

Bei den hier untersuchten Fischen handelt es sich um 169 Mühlkoppfen (*Cottus gobio* L.) aus drei verschiedenen Regionen in Bayern:

- 144 Mühlkoppfen aus dem Königssee
- 11 Mühlkoppfen aus dem Obersee
- 14 Mühlkoppfen aus dem Bayerischen Wald

Die Mühlkoppfen aus dem Königssee¹⁾ wurden im Jahre 1985/86 jeweils im Frühjahr und im Herbst, die Mühlkoppfen aus dem Obersee im Juli 1987, die Mühlkoppfen aus dem Bayerischen Wald im Frühjahr und im Herbst 1986 gefangen.

Die Hälterung erfolgte in gut durchlüfteten 200-l-Glasaquarien mit Wasserdurchlauf. Es wurde Münchner Leitungswasser mit einer Härte von 16,8°dH verwendet. Die Hälterungstemperatur lag zwischen 10 und 14°C. Die Fütterung erfolgte alle zwei Tage mit *Tubifex* spp..

Die Untersuchungszeit für diese Fische erstreckte sich über das ganze Jahr. Größe und Gewicht betrugen im Durchschnitt 13,63 cm bei 20,25 g, der kleinste Fisch wog 2 g bei 4 cm Länge, der größte 50 g bei 34 cm.

a-Tötung der Fische

Die Mühlkoppfen wurden mit einer Lösung von 0,007 % Tricain-Methan-sulphonat (MS 222 - Sandoz) betäubt.

1) Die Fische wurden dankenswerterweise unter großem persönlichen Einsatz durch Tauchgänge von Herrn Dr. Peter Scheinert aus verschiedenen Regionen und Wassertiefen des Königssees gefangen.

b- Blutuntersuchungen

Sofort nach der Betäubung wurden Blutproben genommen. Dies geschah durch Punktion von Herz oder kaudaler V. cava mittels einer auf eine mit Heparin gespülte Spritze aufgesetzten Kanüle. Die Blutausschläge wurden mit Giemsa und Pappenheim (May-Grünwald und Giemsa) gefärbt.

c- Nativ-mikroskopische Untersuchungen

Unmittelbar nach der Blutentnahme erfolgte die Sektion. Bei jedem Fisch wurden kleine Stücke (etwa 2 mm Kantenlänge) der parenchymatösen Organe, der Kiemen, der Muskulatur sowie des zentralen Nervensystems entnommen und auf je einem Tropfen destilliertem Wasser auf einen Objekträger gelegt. Davon wurden Quetschpräparate angefertigt und mikroskopisch bei 40facher Vergrößerung auf Myxosporebefall untersucht.

d- Sporenisolierung

Zur Sporenisolierung wurden die befallenen Nervengewebe in destilliertem Wasser gequetscht und filtriert. Danach wurde das Homogenisat bei 9000 Umdrehungen zentrifugiert, um die Sporen als Pellet zu gewinnen.

e- Nachweis von jodophiler Substanz in den frischen Sporen

Dies geschah durch Behandlung der frischen Sporen mit Lugol'scher Lösung. Dabei wurde ein Tropfen Lugol'scher Lösung zu den frischen Sporen auf dem Objekträger gegeben. Die jodophile Substanz färbte sich daraufhin braun an.

f- Histologische Methoden

Das ZNS wurde unter weitgehender Gewebsschonung freigelegt. Sofort nach den nativ-mikroskopischen Untersuchungen wurden nicht bei Nativuntersuchungen verwendete Teile von Rückenmark und Gehirn sowie Proben der anderen Organe entnommen und in 5 %igem gepufferten Formalin fixiert. Ferner wurde die Fixierung nach Zenker angewendet. Anschließend wurde in Paraplast^R eingebettet. 4 - 5 µm dicke Schnitte wurden auf einem Schlittenmikrotom der Firma Jung angefertigt.

Neben der histologischen Standardfärbung mit Hämatoxilin-Eosin wurden Methylenblaufärbung, Giemsa-Färbung, Azanfärbung und die PAS-Reaktion durchgeführt.

g- Elektronenmikroskopische Methoden

Unmittelbar nach den nativ-mikroskopischen Untersuchungen des ZNS wurden in positiven Fällen Gewebsstücke von 1 bis 2 mm Kantenlänge mit Rasierklingen zerschnitten. Diese Gewebsstücke wurden mit 6,25 %iger kalter Glutaraldehydlösung 3 - 4 Stunden fixiert, anschließend in Sörensen-Phosphatpuffer mehrfach gespült und mit Osmiumtetroxid-Lösung nach Caulfield 2 Stunden nachfixiert. Daraufhin wurde in Sörensen-Saccharose-Pufferlösung gespült und die Gewebeproben nach Entwässerung in aufsteigender Azetonreihe in vorgetrocknete Gelatine kapseln eingebracht und mit Epon 812 nach Luft eingebettet. Nach zweitägiger Polymerisation im Brutschrank wurden die Gelatinehüllen in warmem Wasser entfernt. Semidünnschnitte wurden auf einem Porter Blum MT-1-Ultra-Mikrotom in 0,5 - 1 µm Schnittstärke angefertigt. Anschließend wurden die Schnitte mit Toluidinblau gefärbt.

Die Ultradünnschnitte wurden mit einem Ultracut der Firma Reichert Jung angefertigt, anschließend wurde nach der Methode von Reynolds mit Uranylacetat 30 Minuten und mit Bleicitrat 10 Minuten kontrastiert. Die Untersuchungen der Schnitte erfolgten mit einem Elektronenmikroskop EM 109 der Firma Zeiss.

h- Rasterelektronenmikroskopische Methoden

Die Sporen wurden vom Rückenmark möglichst rein isoliert und als Pellet mit 6,25 %iger kalter Glutaraldehydlösung bei 4°C zwei Stunden fixiert. Danach wurde das Pellet in Sörensen-Phosphatpuffer dreimal gespült und über Nacht im Puffer bei 4°C gelassen. Das Pellet wurde nachher in 1 % gepufferter Osmiumtetroxidlösung 2 Stunden nachfixiert und in einer aufsteigenden Äthanolreihe dehydriert. Danach wurde das Pellet

auf ein Deckglas gelegt und mit 100 %igem Äthanol im Kritischenpunkt-Gerät mittels CO_2 getrocknet. Daran anschließend wurde das Deckblatt mit dem Pellet auf einen Aluminiumträger gebracht und mit einer Goldauflage bedampft.

Die Untersuchungen der Präparate wurden mit der freundlichen Unterstützung durch Herrn Prof. Dr. Welsch mit einem Rasterelektronenmikroskop JEOL 35 CF der Firma Zeiss in der anatomischen Anstalt der Medizinischen Fakultät, München, durchgeführt.

i- Sporenmessung

Die frischen gereiften Sporen wurden nach Länge und Breite sowie Länge der Polkapseln mit einem Commodore PET 3001 (Leitz) vermessen und der statistische Mittelwert aus 50 Sporen ermittelt.

1. B: Infektionsversuche

Um den Entwicklungszyklus von Myxosporea studieren zu können, wurden mit zwei Myxobolidae, *Myxobolus cerebralis* Hofer, 1903, und *Myxobolus cotti* El-Matbouli und Hoffmann, 1987, vier Infektionsversuche durchgeführt.

a- Versuchsanordnung:

Folgende Versuchstiere wurden verwendet:

- Drehkranke Regenbogenforellen aus zwei mit *Myxobolus cerebralis* infizierten Teichen;
- mit *Myxobolus cotti* infizierte Mühlkoppen aus dem Königssee;
- Myxosporea-freie Mühlkoppen aus einem Wiesengraben im Erdinger Moos;
- Forellenbrut aus Instituts-eigenen Beständen;
- Oligochaeten des Genus *Tubifex*, bezogen über Zoo-Fachhandel aus einer Zucht. Die *Tubifex* sp. setzten sich zu ca. 90 % aus *Tubifex tubifex* Müller sowie zu 10 % *Limnodrilus hoffmeisteri* claparède und *Tubifex ignotus* Štolc

Bei allen Versuchen wurde Münchner Leitungswasser mit einem Härtegrad von 16,8°dH verwendet, das über eine Entchlorungsanlage geleitet worden war.

Die Regenbogenforellen wurden mit handelsüblichem, pelletierten Regenbogenforellenfutter, die Mühlkoppen mit Tubifex vom Zoo Fachhandel gefüttert.

b- Versuchsansätze

Folgende Infektionsversuche wurden durchgeführt:

Versuch 1: Direkte Infektion der Forellenbrut mit *M. cerebralis*

Zerkleinerte Knorpelteile von 5 drehkranken Regenbogenforellen (Größe: 15 - 23 cm; Gewicht: 16 - 30 g) wurden in ein 20 l-Glas-aquarium mit 5 cm Bodenschicht aus keimfreien Sand eingebracht.

Anschließend wurde das Glasaquarium mit Leitungswasser gefüllt und mit Kieselgurausströmer belüftet. Die Wassertemperatur lag zwischen 15 und 17°C.

Nach vier Monaten wurde der Inhalt des 20 l-Glasaquariums in einen größeren 100 l-Behälter ohne Wasserdurchlauf umgesetzt. Der Behälter wurde mit Leitungswasser gefüllt und dazu 20 gesunde Forellenbrut (Größe: 4 - 6 cm; Gewicht: 1,4 - 2,0 g) eingesetzt. Die Belüftung erfolgte wie vorher. Die Wassertemperatur schwankte zwischen 15 und 17°C.

Versuch 2: Übertragung von *Myxobolus cerebralis* durch *Oligochaeten* des Genus *Tubifex* auf gesunde Forellenbrut

Von 4 drehkranken Regenbogenforellen (Größe: 14 -25 cm; Gewicht: 15 - 31 g) wurden die zerschnittenen Knorpelteile mit den Sporen in ein ca. 20 l-Glasaquarium, ebenfalls mit einer 5 cm dicken Bodenschicht aus keimfreiem Sand mit Leitungswasser gefüllt und mit Kieselgurausströmer belüftet, eingesetzt.

Ferner wurden 5 g Tubifex auf der Bodenschicht verteilt.

Als Kontrolle wurden in einem anderen 20-l-Glasaquarium mit einer 5 cm dicken Bodenschicht aus keimfreiem Sand 5 g Tubifex eingebracht.

Die Wassertemperatur lag in beiden Aquarien zwischen 16 und 17°C.

Nach 4 Monaten und nach Feststellung der *Triactinomyxon* Sporen im Darmkanal von Tubifex und im Wasser aus dem Aquarium, welches *Myxobolus cerebralis*-Sporen enthielt, wurden die Würmer vom Sand getrennt und mit destilliertem Wasser gereinigt.

Danach wurden zwei Infektionsversuche mit Regenbogenforellen durchgeführt:

Versuch 2a: Infektion durch den Wasserweg

Eine Hälfte der gereinigten Tubifex (ca. 2,5 g) wurde in einem verschließbaren "Planen Sieb" (Maschenweite 200 µm) eingeschlossen, so daß nur die ca. 150 µm großen *Triactinomyxon*, nicht aber Tubifex, durch das Sieb passieren konnten.

In einem 20 l-Glasaquarium wurden 4 Forellenbrütlinge (Größe: 4 - 5 cm; Gewicht: 1,40 - 2 g) und dazu das "Plane Sieb" mit den eingeschlossenen Tubifex eingebracht. Für 14 Tage wurde ohne Wasserdurchlauf mit Kieselgurausströmer belüftet. Die Wassertemperatur lag während der 14 Tage zwischen 15 und 16°C.

Danach wurden die 4 Forellenbrütlinge in gut durchlüftete Glas-aquarien mit 100 l-Fassungsvermögen und Wasserdurchlauf umgesetzt. Die Wassertemperatur lag zwischen 12 und 13°C.

Versuch 2b: Orale Infektion

In einem 20 l-Glasaquarium wurden 7 Forellenbrütlinge (Größe: 4 - 5,5 cm; Gewicht: 1,45 - 2 g) eingesetzt und mit der anderen Hälfte der gereinigten Tubifex gefüttert.

Nach 24 Stunden (nachdem die Forellenbrut die Tubifex aufgefressen hatten) wurden die 7 Forellenbrütlinge in ein 100 l-Glas-aquarium mit Wasserdurchlauf und guter Belüftung umgesetzt. Die Wassertemperatur lag zwischen 12 und 13°C.

Versuch 3: Direkte Infektion der Mühlkoppe mit *Myxobolus cotti*

Hier wurden 4 Mühlkoppen mit Rückenmark, welches mit *Myxobolus cotti* befallen war, zwangsgefüttert.

Die Mühlkoppen wurden in einem 20 l-Glasaquarium mit Belüftung 2 Tage gehältert, um Kot für die mikroskopische Untersuchung gewinnen zu können.

Versuch 4: Übertragung von *Myxobolus cotti* durch *Tubifex* auf *Myxosporea*-freie Mühlkoppen

Das ZNS von 10 mit *Myxobolus cotti* infizierten Mühlkoppen wurde präpariert und auf der 5 cm dicken Bodenschicht aus keimfreiem Sand in einem 20 l-Glasaquarium verteilt. Danach wurden 5 g *Oligochaeten* des Genus *Tubifex* ins Wasser gestreut.

Ein anderes 20 l-Glasaquarium mit 5 cm Bodenschicht aus keimfreiem Sand und 5 g *Tubifex* diene als Kontrolle.

Beide Aquarien waren ohne Wasserdurchlauf und wurden wie im Versuch 2 belüftet. Die Wassertemperatur lag zwischen 15 und 16°C.

Nach 80 Tagen wurden *Triactinomyxon* Sporen im Darmepithel der *Tubifex* und im Wasser aus dem Aquarium, welches *M. cotti* Sporen enthält, festgestellt. Daraufhin wurden die *Tubifex* Würmer vom Sand isoliert und mit destilliertem Wasser gereinigt.

Mit den gereinigten *Tubifex* Würmern wurden die folgenden zwei Infektionsversuche durchgeführt:

Versuch 4a: Übertragung durch den Wasserweg auf *Myxosporea*-freie Mühlkoppen

Eine Hälfte der gereinigten *Tubifex* wurde einem verschließbaren "Planen Sieb" (Maschenweite 200 µm) eingeschlossen und in ein 20 l-Glasaquarium mit 3 *Myxosporea*-freien Mühlkoppen eingebracht. Das Glasaquarium mit den 3 Mühlkoppen und den eingeschlossenen

Tubifex blieb 20 Tage ohne Wasserdurchlauf aber mit guter Belüftung. Alle zwei Tage wurde die Hälfte des Wassers gewechselt. Die Wassertemperatur lag zwischen 16 und 17°C.

Nach diesen 20 Tagen wurden die 3 Mühlkuppen in ein anderes Glasaquarium mit 100 l-Fassungsvermögen und Wasserdurchlauf umgesetzt. Die Wassertemperatur lag zwischen 12 und 13°C.

Versuch 4b: Übertragung durch den Wasserweg auf gesunde Regenbogenforellenbrut

Mit der anderen Hälfte der isolierten Tubifex vom Versuch 4 wurde genauso wie im Versuch 4a verfahren, nur wurden anstelle von Mühlkuppen 7 Forellenbrütlinge (Größe: 4 - 5 cm; Gewicht: 1,50 - 2 g) eingesetzt.

Die Wassertemperatur und die Belüftung waren wie im Versuch 4a.

c- Versuchsablauf und vorgenommene Untersuchungen

Bei Versuch 2 und 4 wurden alle 2 Tage aus jedem Aquarium ca. 10 Tubifex Würmer isoliert. Davon wurden Quetschpräparate hergestellt und nativ-mikroskopisch mit 10- und 40facher Vergrößerung untersucht.

Nach der Feststellung der Triactinomyxon Sporen wurden sie isoliert, und wie in III. 1. A beschrieben, gemessen und photographiert.

Infizierte Tubifex-Würmer wurden in 5 %igem, gepuffertem Formalin fixiert und wie bei III. 1. A. f. für histologische Untersuchungen verfahren. Histologische Schnitte wurden mit Giemsa und Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Die Forellenbrut im Versuch 1, 2a und 2b wurde täglich auf Krankheitserscheinungen, insbesondere Drehsymptome, beobachtet. Im Versuch 4a und 4b wurden die Kuppen bzw. Forellenbrütlinge täglich auf äußere Krankheitserscheinungen und Verhaltensstörungen kontrolliert.

Nach der Tötung wurden die Fische nativ-mikroskopisch, nach der wie in III. 1. A. c, und histologisch, wie in III. a. A. f. beschriebenen Methode, untersucht.

IV. Ergebnisse

A. Untersuchungen auf Myxosporea bei der Mühlkoppe (*Cottus gobio*)

Von 169 untersuchten Mühlköppen aus zwei Regionen (Königssee/ Obersee und Bayerischer Wald) zeigten 90 eine Infektion mit *Myxobolus cotti* El-Matbouli und Hoffmann, 1987. Der Befall war auf das zentrale Nervensystem beschränkt. Das Rückenmark war bei allen 90 befallenen Fischen der Hauptsitz dieses Parasiten, wobei bei 20 Fischen der Befall sowohl im Rückenmark als auch im Gehirn festgestellt wurde. Die parenchymatösen Organe und die Muskulatur erwiesen sich als frei von Myxosporea.

Der Befall in den zwei Regionen stellte sich folgendermaßen dar: Bei 144 Mühlköppen aus dem Königssee waren 71 mit *Myxobolus cotti* befallen, wobei 59 Fische eine hochgradige Infektion zeigten. In 10 Fischen wurde der Parasit sowohl im Rückenmark wie im Gehirn festgestellt.

Bei den untersuchten 11 Fischen aus dem Obersee waren 10 befallen, in 8 Fällen war die Infektion hochgradig. Bei 9 Fischen wurden die Sporen im gesamten zentralen Nervensystem beobachtet, bei einem Fisch war nur das Rückenmark infiziert.

Aus zwei Bächen im Bayerischen Wald wurden 14 Fische untersucht, davon waren 9 hochgradig mit *Myxobolus cotti* befallen. Neben dem Rückenmark war bei einem Fisch auch das Gehirn hochgradig infiziert. Als hochgradig wurde in dieser Arbeit ein Befall bezeichnet, bei dem sich bei zehnfacher Vergrößerung eines Quetschpräparates in jedem Blickfeld mehr als zwei Trophozoiten "Zysten" befanden. Bei mittelgradigem Befall gab es unter gleichen Bedingungen nur einen Trophozoiten pro Blickfeld.

Eine Übersicht über den Befall und die Verteilung gibt die Tabelle 4.

Tabelle 4: Häufigkeit des Befalls mit *M. cotti* bei Mühlkoppen verschiedener Gewässer

Untersuchte Gewässer	Untersuchte Fische	befallene Fische				
		insgesamt	hochgradig		mittelgradig	
			G+R*	G	G+R	G
Königssee	144	71 (49%)	59	2	12	8
Obersee	11	10 (91%)	8	6	2	3
Bayerischer Wald	14	9 (64%)	9	1	-	-

* G = Gehirn; R = Rückenmark

Die befallenen Mühlkoppen unterschieden sich weder in Verhalten noch in der Färbung von nicht infizierten. Einflüsse der Jahreszeiten waren nicht feststellbar.

1. Nativ-mikroskopische Untersuchungen der frischen Sporen

Die Sporen waren in der Aufsicht meistens eiförmig und am vorderen Ende leicht ausgezogen. Die Polkapseln waren ebenso eiförmig oder birnenförmig und annähernd gleich groß. Sie lagen am Apex der Spore wie bei allen anderen Spezies des Genus *Myxobolus* und erstreckten sich etwa über zwei Drittel der Spore.

Gelegentlich wurden reife Sporen beobachtet, die mehr rundlich waren (Abb. 1d), wobei die beiden Polkapseln birnenförmig blieben. Bei mikroskopischer Betrachtung frischer reifer Sporen mit dem 40er Objektiv zeigt sich ein kleiner dreieckiger Vorsprung zwischen den beiden Polkapseln (Abb. 1).

Im Hinblick auf die Naht hatten die Sporen spindelförmige Gestalt und zeigten symmetrische Schalen, die sich im Bereich der Nahtlinie verdicken. Lichtmikroskopisch konnte man in den frischen Sporen die Pofilamente innerhalb der Polkapseln sehr gut beobachten. Sie lagen in Windungen mit einem Winkel von ca. 45° zur Längsachse der Spore (Abb. 1b).

Die Maße der einzelnen Sporenteile sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5: Übersicht über die Maße nativ vermessener Sporen
(n=50) in μm ; () Minimal bzw. Maximalwert

	Spore	Polkapsel
Länge	$12,40 \pm 1,38$ (8,90-15,11)	$6,44 \pm 1,11$ (4,34-9,01)
Breite	$9,62 \pm 0,87$ (8,01-12,42)	$2,89 \pm 0,41$ (2,07-3,76)

Länge des ausgestülpten Pofilaments = $57,14 \mu\text{m} \pm 2,40 \mu\text{m}$

2. Nachweis der jodophilen Substanz

Durch Behandlung der frischen reifen Sporen mit Lugol'scher Lösung ließ sich im Sporoplasma diffus verteilt amorphes jodophiles Material nachweisen. Eine scharf abgegrenzte jodophile Vakuole wurde nicht gesehen.

3. Nachweis der Schleimhülle

Mit Tusche-Markierung wurde um die Sporen eine dünne Schleimhülle ($0,8 \mu\text{m}$) nachgewiesen (Abb. 2).

4. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

Bestimmte Eigenschaften der Sporen wurden besonders deutlich mit dem Rasterelektronenmikroskop dargestellt. Lateral gesehen hatten die Sporen linsenförmige Gestalt (Abb. 3). Die Sporenschale bestand aus zwei Klappen, die gewölbt waren und sich in einer die Spore umgebenden Nahtlinie trafen (Abb. 3 und 4). Die zwei Klappen waren im Bereich der Nahtlinie dicker und erschienen wie ein Rahmen (Randnaht) um die Spore. Die Klappen der reifen Spore waren ziemlich glatt. An beiden Schalenklappen befanden sich entlang der Nahtlinie 8 bis 10 dreieckige Falten (Abb. 4), die bei nativ-mikroskopisch untersuchten Sporen (Abb. 1) nur angedeutet waren und eine Vertiefung in Form einer Furche um die Spore aufwiesen.

Vorn waren die zwei Schalenklappen in Form zwei stärker ausgebildeter Falten leicht zugespitzt. An deren Mündungen in der Randnaht erschienen zwei Öffnungen (je Klappe eine Öffnung) in Form eines schmalen leicht ovalen Schlitzes (Abb. 4) für die Ausstülpung der Pofilamente. Diese Öffnungen lagen parallel zur Nahtlinie und hatten eine Länge von ca. 1 μ m. Hinten waren die Sporen entlang der Randnaht abgerundet (Abb. 3).

5. Histologische Untersuchungen

Bei allen angewandten Färbemethoden ließen sich histologisch nur reife Sporen beobachten. In längsgeschnittenen Rückenmarkspräparaten lagen die Trophozoiten zwischen dem Nervengewebe und waren über die gesamte Länge des Rückenmarks verteilt (Abb. 5). In Rückenmarksquerschnitten befanden sich zahlreiche Trophozoiten sowohl in der weißen als auch in der grauen Substanz (Abb. 6). In mit Methylenblau gefärbten Schnitten fielen diese durch die intensive Färbung der Sporen deutlich auf (Abb. 7).

Im Gehirn wurden die Sporen im Telencephalon, Mesencephalon, Cerebellum und in der Medulla oblongata festgestellt, wobei die Befallsintensität im Telencephalon, Mesencephalon und Cerebellum gering war (Abb. 8). In der Medulla oblongata war der Befall immer hochgradig (Abb. 9). Die Gestalt der Trophozoiten war im Schnitt meist länglich, oft sogar im Verhältnis zum Durchmesser langgestreckt. In wenigen Fällen hatten sie fast kugelige Gestalt.

Im histologischen Schnitt maßen große Trophozoiten im Durchschnitt (0,5 mm) bei einer Breite von (0,1 mm). Die mit Sporen gefüllten Trophozoiten verdrängten große Teile von Gehirn- und Rückenmarksgewebe. Bei einem Fisch war im histologischen Schnitt mehr als 50 % des Gehirn- und Rückenmarksgewebes durch Trophozoiten ausgefüllt (Abb. 10 und 13).

Die Sporenanhäufungen lagen meistens ohne Gewebsreaktion zwischen den auseinandergedrängten Nervenfasern. In zwei Fällen wurde um die Sporenaggregate, in der Medulla oblongata und im Cere-

bellum, eine lockere Infiltration mit Gliazellen beobachtet (Abb. 14).

Die PAS-Reaktion war in den Sporen im Bereich der Schale, in den Polkapseln und im Sporoplasma positiv.

Im Bereich der Meningen wurden nie Sporen beobachtet.

6. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

In Transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen ließen sich sowohl reife als auch verschiedene Entwicklungsstadien (Pansporoblasten und Sporoblasten) in Rückenmark und Gehirn unterscheiden.

6.1. Frühes Entwicklungsstadium

Das früheste Entwicklungsstadium im untersuchten Material war dreizellig und fand sich zwischen den Nervenfasern im Rückenmark (Abb. 15). Dabei lagen zwei Zellen mit ihren dünnen kontrastreichen Membranen eng nebeneinander und waren von einer dritten Zelle umgeben.

Dieses Entwicklungsstadium war oval und hatte eine Länge von 5,2 μm und eine Breite von 2,6 μm . Es fiel durch seinen Reichtum an Ribosomen und Mitochondrien deutlich auf. In den zwei umhüllten Zellen befanden sich die Mitochondrien in Kernnähe. Die zahlreichen Mitochondrien in den drei Zellen waren oval und vom tubulären Typ. Golgi-Apparate waren vereinzelt vorhanden. Auffallend war, daß Nervenfasern und ihre Markscheiden durch das Entwicklungsstadium verdrängt und komprimiert waren (Abb. 15).

6.2. Sporenbildungsstadium "Sporogenese"

Außer dem im vorherigen Abschnitt beschriebenen frühen Entwicklungsstadium wurden immer nur große mehrsporige Trophozoiten beobachtet. Diese lagen zwischen verdrängten Nervenfasern und enthielten neben reifen Sporen, Pansporoblasten und Sporoblasten. Letztere befanden sich zwischen den reifen und reifenden Sporen innerhalb der Trophozoiten.

Bei früheren Pansporoblasten ließ sich für die Zellzahl immer nur eine untere Grenze angeben, da nicht bekannt war, ob außer den im Ultradünnschnitt getroffenen Zellen noch weitere nicht in der Schnittebene lagen. Serienschnitte konnten nicht in ausreichendem Maß ausgewertet werden, um eine sichere Entscheidung treffen zu können.

Die mehrzelligen Stadien, die hier als frühe Pansporoblasten angesprochen wurden, waren reich an ovalen Mitochondrien vom tubulären Typ, welche meistens in Kernnähe lagen. Die Zellen in diesen Stadien waren reich an gleichmäßig verteilten Ribosomen, ihre Zellkerne hatten öfter ovale Form und fielen durch ihr elektronendichtes grobscholliges Chromatin auf (Abb. 16). In manchen Präparaten konnten Sporoblasten mit 6 Zellen innerhalb der Trophozoiten zwischen den reifen Sporen dargestellt werden (Abb. 17). Dabei ließen sich Strukturunterschiede in den einzelnen Zellen feststellen. Die zwei Zellen, welche die zwei Schalenklappen bildeten, ließen sich durch ihre Kernlokalisation am Rande des Sporoblasten sowie die längliche Form des Kernes gegenüber den anderen Zellen abgrenzen (Abb. 17 und 18). In den frühen Sporoblasten zeigten häufig zwei Zellen elektronenoptisch sehr dunkle Nucleoli, welche sich seitlich im Zellkern befanden (Abb. 17 und 18). In diesen nucleolihaltigen Zellen konnten neben rauhem endoplastischen Retikulum ein von einer kontrastreichen Membran umschlossenes Gebildet beobachtet werden (Abb. 18). Wahrscheinlich handelte es sich um ein sehr frühes Polkapsel-Primordium. Golgi-Apparate kamen vereinzelt in allen Zellen der frühen Sporoblasten vor. In frühen Pansporoblasten konnten teilweise bis 9 Zellen beobachtet werden (Abb. 16).

6.3. Zelldifferenzierung und deren Anordnung

In jedem Sporoblasten differenzierten sich die Zellen, wie folgt, weiter:

- zwei Zellen bilden den Amöboidkeim
- zwei Zellen bilden die Polkapseln
- zwei Zellen bilden die Schalenklappen

In der Regel waren die Pansporoblasten zweisporig, in einzelnen Fällen war nur eine Spore nachweisbar.

In den untersuchten Präparaten trat das Polkapsel-Primordium innerhalb der Polkapselzelle ohne eindeutig erkennbare Vorstadien auf, die als eine Weiterentwicklung der in 6.2. beschriebenen Gebilde (Abb. 18) aufgefaßt werden könnten. Das früheste eindeutig ansprechbare Stadium hatte eine keulenförmige Gestalt und war mit einer elektronenoptisch fein granulierten Substanz gleichmäßig ausgefüllt und von einer elektronenoptisch helleren, schmalen Zone umgeben (Abb. 19). In anderen Schnitten erschien dieses keulenförmige Polkapsel-Primordium mit einer Einschnürung an einem Ende und war von zahlreichen ovalen Mitochondrien vom tubulären Typ umgeben (Abb. 20). In der Folge nahm die Keulenbasis eine rundliche Gestalt an, die Spitze hingegen wuchs in Form eines Schlauches aus, der in Windungen verlief, so daß er in Anschnitten mehrfach getroffen werden konnte (Abb. 21). Innerhalb des kugelförmigen Primordiums erschien unter der helleren eine dunklere Randzone. Sowohl die längsgetroffenen als auch die quergeschnittenen Schläuche waren mit dunkler Substanz gefüllt. Diese granulierte Substanz konnte auch an verschiedenen Stellen innerhalb des Primordiums verfolgt werden. Dabei war sie unregelmäßig verteilt in amorphen Anhäufungen und fiel durch ihren Kontrastreichtum und ihre Größe gegenüber der vorhandenen elektronenoptisch helleren und feiner granulierten Grundsubstanz im Primordium auf (Abb. 19, 21 und 22).

Eine auffällige Besonderheit in den quergeschnittenen Schläuchen war eine fibrilläre Struktur um das Zentrum sowie die S-förmige Gestalt der granulierten Substanz innerhalb des Schlauches (Abb. 23). Im Laufe der weiteren Entwicklung erschien innerhalb des Polkapsel-Primordiums ein spiralgig aufgewundenes Filament, das die Form einer Acht im Querschnitt hatte (Abb. 24 und 25). Die elektronenoptisch sehr dichte Substanz des Filamentes war von einer Membran umgeben. Zwischen dieser Membran und der Substanz fiel eine elektronenoptische helle Zone auf (Abb. 25).

Die Zahl der Windungen des Polfilamentes betrug in 90 % der untersuchten Präparate 8. In ca. 10 % waren es 7 Windungen. Häufig wurden Sporen beobachtet, in denen eine Polkapsel gut ausgebildet, die andere aber noch als Primordium vorlag, wobei die Keulenbasis am Vorderende der Spore zu liegen kam (Abb. 26). In den reifenden Sporen lagen die Kerne der Polkapselzellen seitlich der Polkapsel (Abb. 27), hingegen bei fast reifen Sporen unterhalb der ausgebildeten Polkapseln (Abb. 28).

In fast reifen Sporen wurde die Befestigung des Polfilamentes an der vorderen Polkapselwandung beobachtet (Abb. 28 und 29). Auch die fibrilläre Struktur des Polfilamentes war sehr eindeutig zu erkennen. Eine sehr auffällige Besonderheit war der dreieckige kappenähnliche Verschuß der Polkapsel und seine fibrilläre Struktur. Die äußere dunkle und kontrastreiche Polkapselmembran setzte sich auf dem Verschuß fort, während die helle innere das Polfilament umhüllt. Zwischen dem Verschuß und dem Anfang des Polfilamentes war elektronenoptisch hellerer Abschnitt gut zu erkennen (Abb. 29). Die Membran der Polkapselzellen nahm in den fast reifen Sporen dementsprechend die Form der Polkapsel an, dabei verlief sie mit dem Verschuß der Polkapsel in die Ausstülpungsöffnung des Polfilamentes in der Klappenzone (Abb. 28 und 29).

Nicht selten wurden bei den Sporoblasten Glycogenansammlungen in den Polkapselzellen beobachtet. Sie lagen unregelmäßig in den gesamten Polkapselzellen verteilt (Abb. 28). Die Mitochondrien nahmen in den gereiften Polkapseln an Zahl ab. In wenigen Sporoblasten wurden vereinzelt Golgi-Apparate in reifenden Polkapselzellen beobachtet (Abb. 28).

Sobald das Polkapsel-Primordium erschien, fiel der Amöboidkeim durch die eigenartige Strukturierung seiner Zellorganellen auf. In reifen Sporen füllte er den gesamten Teil unterhalb

der beiden Polkapseln und dehnte sich zum Teil zwischen ihnen aus. Es erschien sehr deutlich, daß der Amöboidkeim zweikernig war (Abb. 30 und 31). Die zwei Kerne lagen eng nebeneinander. Nicht selten war einer der beiden halbmondförmig um den anderen angeordnet (Abb. 31). Häufig war in Kernnähe ein gut entwickeltes endoplasmatisches Retikulum vorhanden.

Die Mitochondrien zeigten eine eigenartige Struktur. Sie lagen öfter in der Nähe der zwei Kerne und hatten eine dunkle Matrix, die häufig an einer Stelle vakuolisiert war (Abb. 30 und 31). Ribosomen waren gleichmäßig in der ganzen Zelle verteilt. Sehr auffällig waren für den Amöboidkeim charakteristische kugelige Einschlüsse. Sie hatten einen Durchmesser von 0,2 μm . Diese nahmen bei fortschreitender Entwicklung an Zahl zu und waren unregelmäßig im gesamten Amöboidkeim verteilt. Deren Inhalt war elektronenoptisch sehr dicht und hatte öfter an einer Seite einen helleren Bereich (Abb. 31).

Die in der Lichtmikroskopie mit Lugol'scher Lösung festgestellten jodophilen Substanzen korrespondierten offensichtlich elektronenmikroskopisch als dichte Ansammlungen von Glycogen im Amöboidkeim (Abb. 26, 28 und 31). Diese Ansammlungen variierten an Zahl und Größe und hatten keine umgebende Membran.

An der Amöboidkeimmembran wurden häufig Abschnürungen von Pinocytose-Bläschen beobachtet (Abb. 32). Diese entstanden durch Invagination der Amöboidkeimmembran nach innen. Sie waren kugelförmig und enthielten eine hellere Matrix. Die abgetrennten Bläschen mit ihrer kontrastreichen Membran und helleren Matrix waren im gesamten Amöboidkeim zu verfolgen.

Die Klappenzellen waren besonders als solche erkennbar in den Sporoblasten, in denen bereits das Polkapsel-Primordium und der Amöboidkeim ausgebildet waren. Sie flachten sich ab und dehnten sich um die restliche Sporenanlage aus. Ihre Kerne waren langgestreckt und lagen je an einer Seite etwa in der Mitte der reifenden Spore (Abb. 26 und 28). Selten befanden sich die zwei Kerne der Klappenzellen an der Nahtlinie am zukünftigen hinteren Ende der Spore (Abb. 33).

In den frühen und reifenden Sporoblasten befanden sich an der Verbindungslinie (Nahtlinie), wo sich die zwei Klappenzellen trafen, zahlreiche rundliche Mikrotubuli im Cytoplasma der Klappenzellen (Abb. 34).

Während der Entwicklung der Klappenschalen wurden vereinzelt ovale Mitochondrien mit hellerer Matrix und weniger Cristae beobachtet. In fast reifen Sporen wurden die Klappenzellen sehr schmal, ihre Kerne nahmen eine längliche und flache Gestalt an. In diesen Stadien wurden immer diskontinuierliche Ablagerungen elektronendichter Substanzen in der Zytoplasmahülle der Klappenzellen beobachtet (Abb. 26). Im Laufe der weiteren Entwicklung schrumpften die Klappenzellorganellen, ihre Kerne lösten sich auf, so daß sie um die Spore schmale dunkle und kontrastreiche Schalen bildeten. In den reifen Sporen war die aus Klappenzellen entstandene Schale elektronenoptisch sehr dicht und homogen. Am vorderen Ende der Spore gingen die zwei benachbarten Klappenzellwände im Bereich der Naht auseinander und bildeten vorn eine dreieckige Verdickung (Abb. 35). In dieser Verdickung konnten im Ultraschnitt an beiden Seiten der Nahtlinie die zwei Öffnungen für die Ausstülpung der Polfilamenten beobachtet werden.

Sowohl die Polkapselzellorganellen als auch die Zellorganellen des Amöboidkeimes und der Schale waren in den reifen Sporen elektronenoptisch sehr dunkel und nicht mehr erkennbar.

Abb.1: Reife Sporen von *Myxobolus cotti*, Isoliert aus dem ZNS
(Nativpräparat)

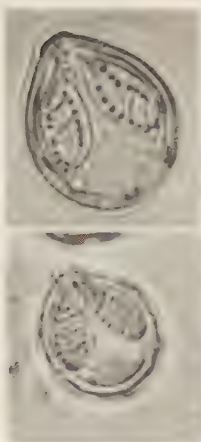
- a- Reife Spore mit ausgeschleudertem Pofilament
Vergr.: 750 x
- b- Typische Form, birnenförmig und am vorderen Ende
leicht zugespitzt.
Vergr.: 1890 x
- c- Birnenförmige Sporen
Vergr.: 750 x
- d- Seltene Form, die mehr sphärisch ist
Vergr.: 750 x

Abb. 2: Mit Tusche behandelte reife Sporen

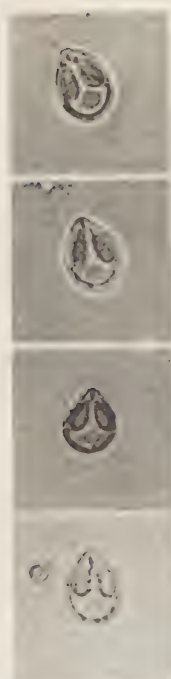
um die Sporen ist eine für Tusche undurchlässige
Schleimhülle (0,8 μ m) erkennbar
Vergr.: 750 x



1a



1b



1c



1d



2

Abb. 3: Laterale Ansicht von *Myxobolus cotti*

(Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme)

Vorn ist die Spore leicht ausgezogen (V) in Form einer großen dreieckigen Verdickung ($\rightarrow$); (H) abgerundetes Hinterende; (R) Randnaht

Vergr.: 15 000 x

Abb. 4: Nahtansicht von *Myxobolus cotti*

(Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme)

Die zwei Klappen treffen sich in der Nahtlinie (N). Entlang der Randnaht befinden sich dreieckige Verdickungen (V) und eine Vertiefung in Form einer Furche (F) um die Spore.

Vorn befindet sich in jeder Klappe ein Schlitzöffnung (O) für die Ausstülpung des Polfilamentes

Vergr.: 15 000 x

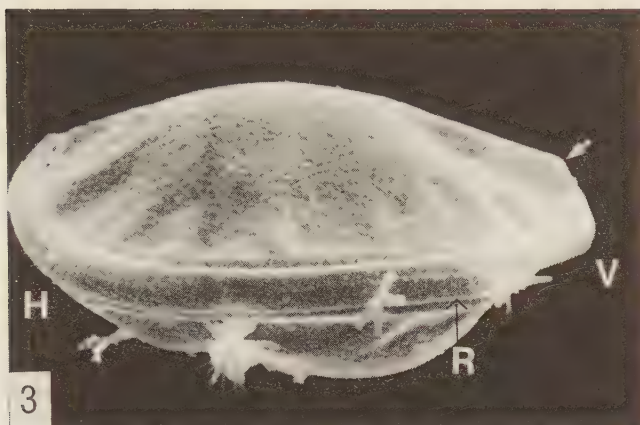


Abb. 5: Längsschnitt vom Rückenmark (Paraffinschnitt)

Die Trophozoiten von *Myxobolus cotti* sind über die gesamte Länge des Rückenmarks verteilt (→)

Färbung: Methylenblau

Vergr.: 37 x

Abb. 6: Querschnitt vom Rückenmark (Paraffinschnitt)

Die Trophozoiten von *Myxobolus cotti* kommen sowohl in der weißen als auch in der grauen Substanz vor

Färbung: Methylenblau

Vergr.: 60 x

Abb. 7: Ausschnitt aus Abb. 9

(T) Trophozoiten

Vergr.: 118 x

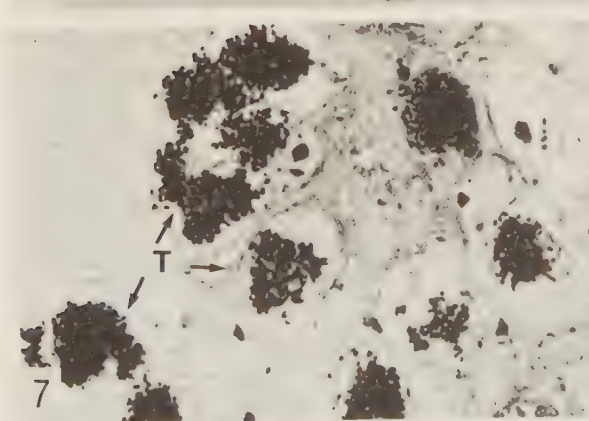
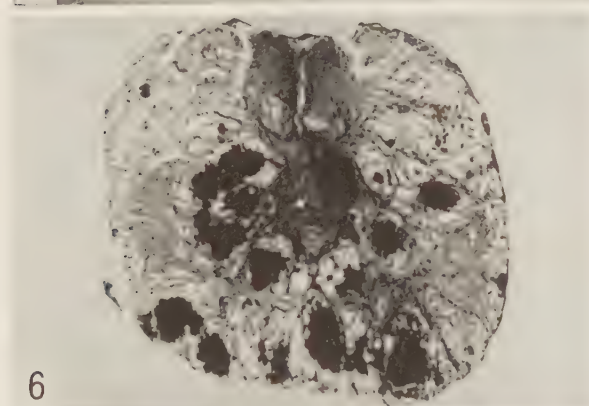


Abb. 8: Längsschnitt im Cerebellum (Paraffinschnitt)

Im Bild ist ein Trophozoit von *Myxobolus cotti*

Färbung: H.E.

Vergr.: 480 x

Abb. 9: Längsschnitt in der Medulla oblongata (Paraffinschnitt)

Hochgradige Infektion der Medulla oblongata mit
zahlreichen Trophozoiten von *Myxobolus cotti*

Färbung: H.E.

Vergr.: 300 x

Abb. 10: Längsschnitt im Gehirn (Semidünnschnitt)

Zahlreiche Trophozoiten von *Myxobolus cotti*
zwischen dem Nervengewebe

Färbung: Toluidinblau

Vergr.: 189 x

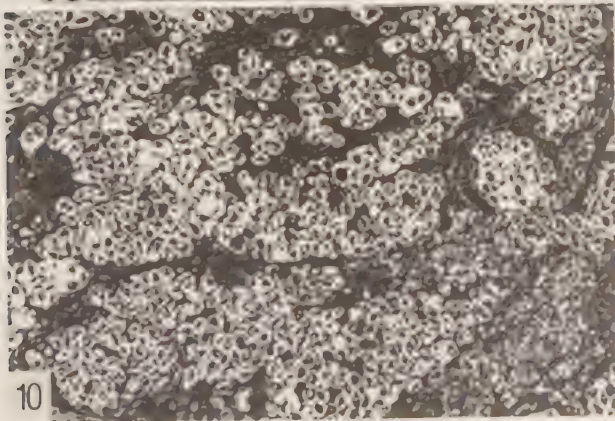
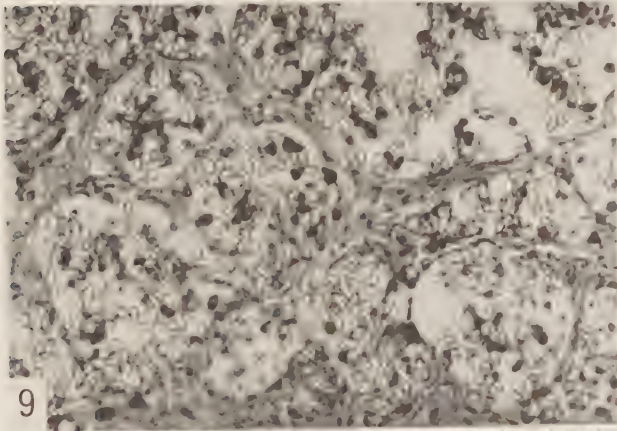
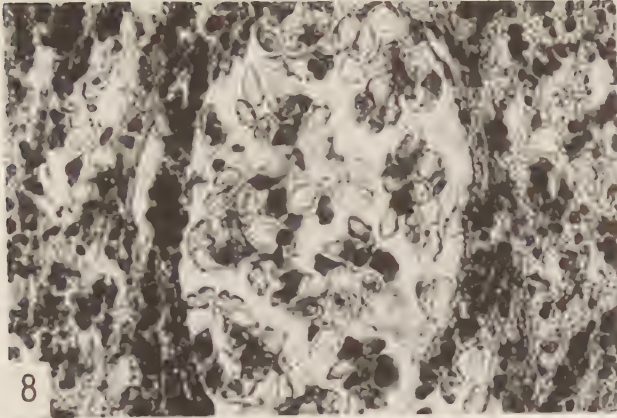


Abb. 11: Ausschnitt aus Abb. 10

Die Trophozoiten (T) mit den reifen Sporen von *M. cotti* liegen zwischen den verdrängten Nervenfasern (N)

Vergr. 925 x

Abb. 12: Querschnitt durch das Rückenmark (Semidünnschnitt)

Zahlreiche Trophozoiten von *M. cotti* liegen zwischen dem Rückenmarksgewebe; (Z) Zentralkanal

Färbung: Toluidinblau

Vergr.: 120 x

Abb. 13: Ausschnitt aus Abb. 12

(T) Trophozoit, (VR) verdrängtes Rückenmarksgewebe

Vergr.: 600 x

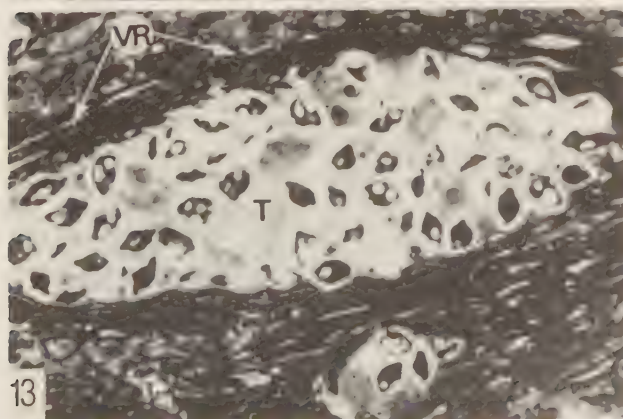
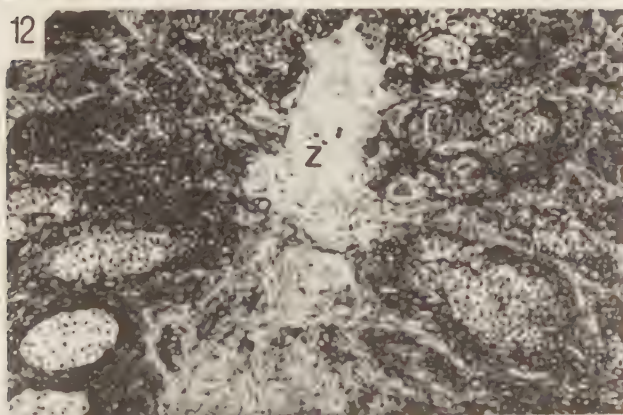
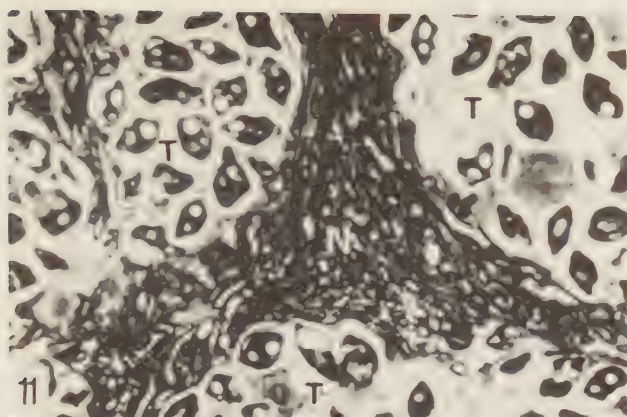


Abb. 14: Längsschnitt im Bereich der Medulla oblongata
(Paraffinschnitt)

Um die Sporenaggregate ist eine lockere Infiltration mit Gliazellen (→) zu sehen.

Färbung: H.E.

Verg.: 300 x

Abb. 15: Früheres Entwicklungsstadium von *M. cotti* im Rückenmark

Dieses Stadium ist vermutlich zweizellig (1 und 2).
Sie sind von einer dritten Zelle (3) umgeben;
(→) zahlreiche Mitochondrien in den drei Zellen.
(N) zwei komprimierte Nervenfasern, (K) Zellkern

Vergr.: 13 410 x

Abb. 16: Früher Pansporoblast

Die Zellkerne (K) sind elektronendicht. Im Schnitt
enthalten drei Kerne je einen Nucleolus.
Die Mitochondrien (→) befinden sich in Kernnähe

Vergr.: 13 410 x

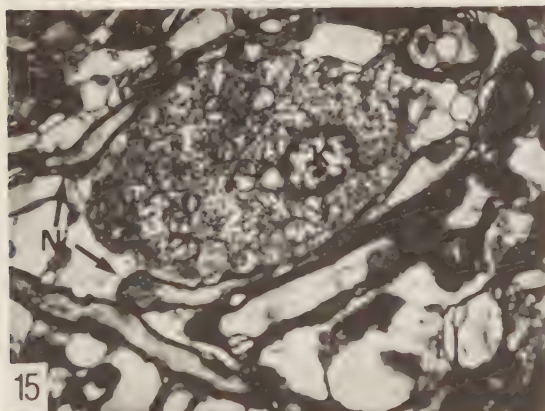
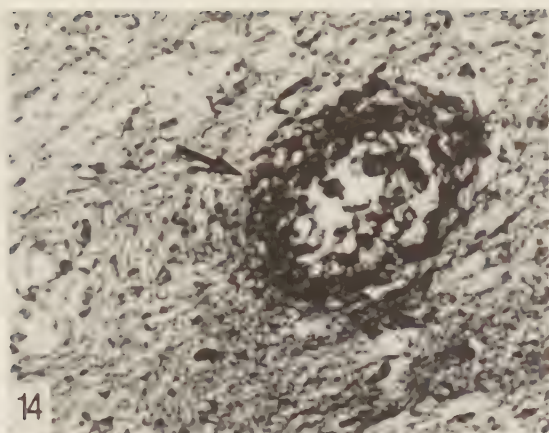


Abb.17: 6-zelliger Pansporoblast

Die Kerne der zukünftigen Klappenzellen (K) sind abgeflacht und liegt am Rand des Pansporoblasten.

(→) Mitochondrien, (G) Golgi-Apparat. In der Mitte nucleolushaltiger Zellkern

Vergr.: 13 410 x

Abb. 18: Früher Pansporoblast

Im Schnitt sind 5 Zellen angetroffen, zwei Zellkerne enthalten Nucleoli (N). Der Klappenzellkern (K) ist länglich und abgeflacht. (M) ovale Mitochondrien, (G) Golgi-Apparat, (P) vermutlicher Ursprung einer Polkapsel

Vergr.: 12 000 x

Abb. 19: Ausschnitt aus einem Pansporoblasten

Zweisporiger Pansporoblast mit dem keulenförmigen Polkapsel-Primordium (KP) innerhalb einer Polkapselzelle (P) Polkapsel-Primordium mit Tubulus externus (T)

Vergr.: 7 000 x

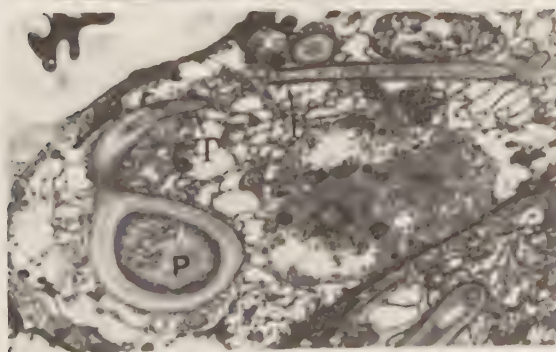
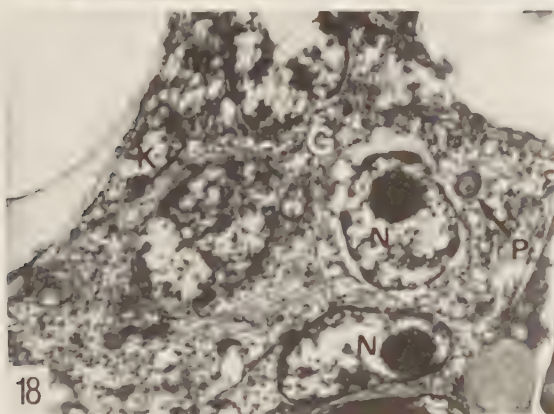
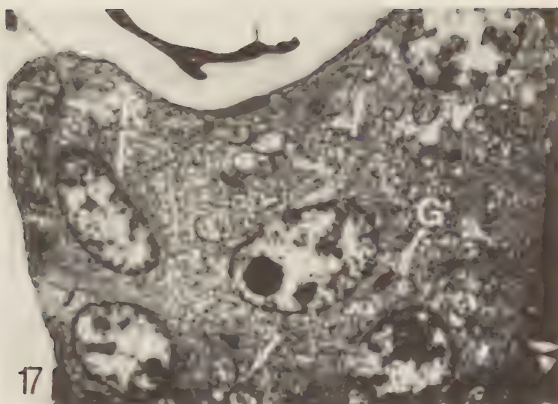


Abb. 20: Frühes Stadium einer Polkapsel

Keulenförmiges Polkapselprimordium (P) mit einer Einschnürung (E) an einem Ende. (M) Mitochondrien, (S) angeschnittenes Polkapsel-Primordium in der benachbarten Polkapselzelle

Vergr.: 20 000 x

Abb. 21: Polkapselzelle mit dem Polkapsel-Primodium

(P) Polkapselprimodium, (T) quergeschnittene Anteile des Tubulus externus
(M) Mitochondrien

Vergr.: 20 000 x

Abb. 22: Zweisporiger Pansporoblast

In dem Polkapsel-Primordium (P) befindet sich granulierende Substanz (→), diese ist auch in dem quergetroffenen Tubulus externus (T) zu finden.
(L) Suture-Linie der Klappenzellen

Vergr.: 7 000 x

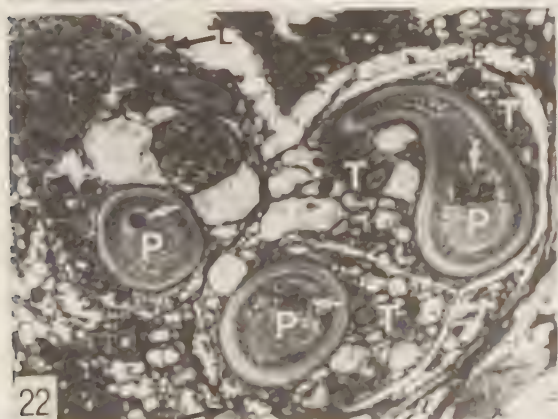
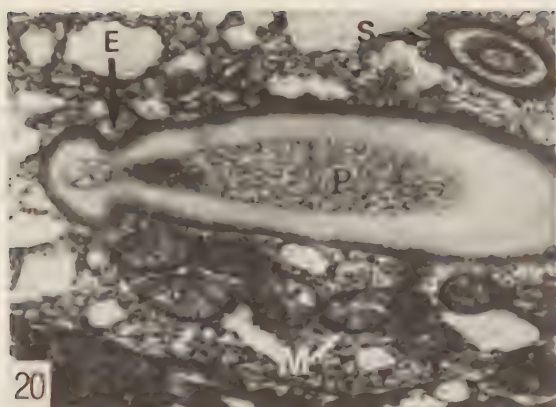


Abb. 23: Zweiporiger Pansporoblast

Um das Pokapsel-Primordium (P) sind quergeschnittene Anteile des Tubulus externus teils mit fibrillärer Struktur (TF) und teils mit S-förmig angeordneter granulierter Substanz (S).

(L) Nahtlinie der Klappenzenellen

Vergr.: 20 000 x

Abb. 24: Polkapsel, jüngerer Stadium

(PF) 8 Windungen des Pofilamentes, (HZ) hellere Zone, (DZ) dunkel granulierte Zone

Vergr.: 20 000 x

Abb. 25: Ausschnitt aus Abb. 24

Die Windungen des Polfilamentes (PF) haben die Form einer Acht und sind von einer Membran umgeben. Eine hellere schmale Zone befindet sich zwischen der äußeren Membran und dem Filamentzentrum.

Vergr.: 50 000 x

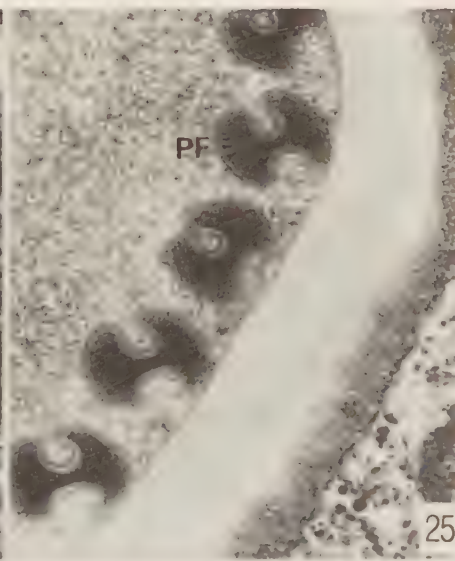
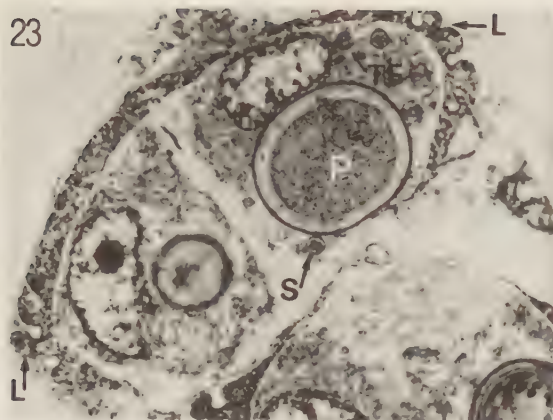


Abb. 26: Reifende Sporen

Die rechte Polkapsel ist fast reif und enthält Polfilamentwindungen (PF). Die linke liegt noch als PolkapselPrimordium (P) vor. Die zwei Klappen Zellkerne (K) befinden sich je an einer Seite etwa im unteren Drittel der Spore. Der Amöboidkeim ist zweikernig (K_1 und K_2);
(S) diskontinuierliche kontrastreiche Substanz zwischen den beiden Membranen der Klappen Zellen.
(G) Glycogenansammlung

Vergr.: 13 410 x

Abb. 27: Jüngerer Stadium einer Polkapsel

Der Polkapsel Zellkern (K) liegt seitlich von der Polkapsel; (PF) Polfilamentwindungen, (A) Amöboidkeim

Vergr.: 22 990 x

Abb. 28: Reife Spore von *M. cotti*

(A) Amöboidkeim, (G) Glycogenansammlung,
(PK) Polkapsel Zellkern, (KK) Klappen Zellkern,
(S) diskontinuierliche elektronendichte Substanz zwischen den beiden Klappen Zellmembranen,
($\longleftrightarrow$) Golgi-Apparat, (PA) Polkapsel-Anschnitt,
(F) Polfilament

Vergr.: 13 410 x



Abb. 29: Längsschnitt durch das Vorderende einer reifen Polkapsel

(K) dreieckiger kappenähnlicher Verschuß der Polkapsel.
Das Polfilament (PF) ist am Vorderende der Kapsel
befestigt (→). (M) Polkapselzellmembran, (AW) Außen-
wand der Polkapsel, (IW) Innenwand der Polkapsel

Vergr.: 50 000 x

Abb. 30: Hinterende einer reifen Spore mit dem Amöboidkeim

(A) Amöboidkeim, (K1 und K2) die zwei Kerne des Amöboid-
keimes, (→) endoplasmatisches Retikulum,
(E) kugelförmige elektronendichte Einschlüsse

Vergr.: 12 000 x

Abb. 31: Hinterende eines reifen Pansporoblasten
mit zwei Amöboidkeimen

(A1 und A2) Amöboidkeime, beide sind zweikernig, in
A1 liegt ein Kern halbmondförmig um den anderen,
(M) vakuolisierte Mitochondrien,
(G) Glycogen-Ansammlungen,
(E) kugelförmige elektronendichte Einschlüsse

Vergr.: 13 410 x

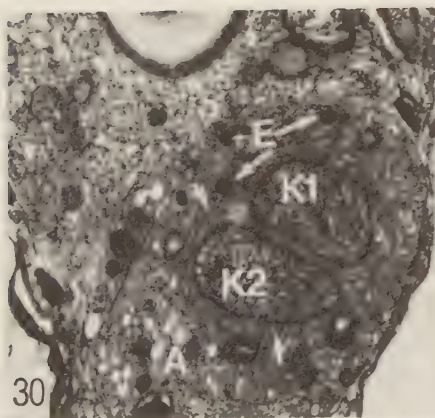


Abb. 32: Ausschnitt aus einem Amöboidkeim

(AM) Amöboidkeimmembran, (IK) innere Membran der Klappenzelle, (P) Abschnürung von Pinocytose-Bläschen, (G) Glycogen-Ansammlung.

Vergr.: 20 000 x

Abb. 33: Reifende Spore

(L) Nahtlinie, (K1 und K2) Kerne der zwei Klappenzellen, (A) Amöboidkeim, (P1 und P2) Polkapsel-Primordium, (K) Polkapselzellkern, (↔) quergeschnittene Schläuche

Vergr.: 7 000 x

Abb 34: Ausschnitt aus zwei Klappenzellen im Bereich der Naht

Die zwei Klappenzellen (K1 und K2) treffen sich in einer die Spore umgebenden Nahtlinie (↔)

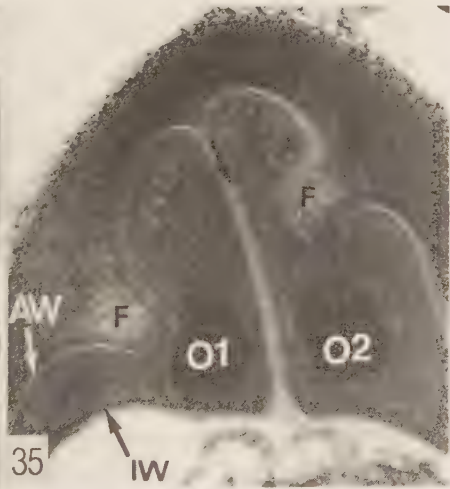
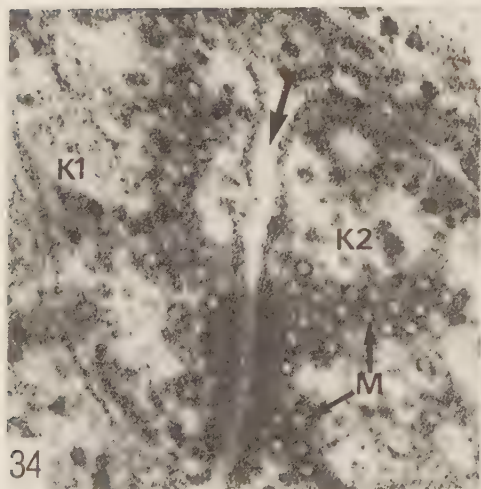
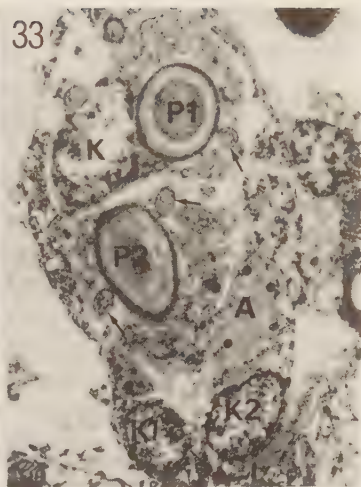
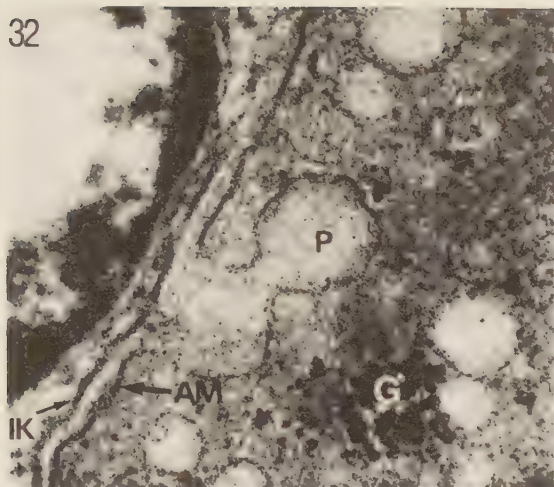
(M) Mikrotubuli

Vergr.: 140 000 x

Abb. 35: Vorderende einer reifen Spore

(↔) Nahtlinie, (F) furchenartige Vertiefung in der Sporenschale, (AW) Außenwand der Klappenzelle, (IW) innere Wand der Klappenzelle, (O1 und O2) zwei Ausstülpungsöffnungen der Polfilamente

Vergr.: 50 000 x



B. Infektionsversuche

Versuch 1: Direkte Infizierung von Forellenbrut mit Sporen von Myxobolus cerebralis

Während des Zeitraumes des Versuchs (5 Monate) zeigte die Forellenbrut weder Schwärzung des kaudalen Bereiches noch Drehsymptome. Sowohl die nativ-mikroskopischen als auch die histologischen Untersuchungen ergaben keine Hinweise auf das Vorkommen von *Myxobolus cerebralis*. Bei der Auswertung der Blutaussstriche wurden keine potentiellen Entwicklungsstadien von *Myxobolus cerebralis* beobachtet.

Versuch 2: Übertragung von Myxobolus cerebralis durch Oligochaeten des Genus Tubifex auf Forellenbrut

2.1 Infektion von Tubifex spp. mit M. cerebralis

Bei nativ-mikroskopischen Untersuchungen der Quetschpräparate von *Tubifex* aus dem Aquarium, welches Sporen von *Myxobolus cerebralis* enthielt, wurden zunächst am 22. und am 37. Tag nach Versuchsbeginn Sporen von *Myxobolus cerebralis* im Darmkanal der *Tubifex* beobachtet. Dabei wurde pro Wurm nur jeweils eine Spore gesehen. Diese lag frei und intakt im Darmlumen der *Tubifex*. Am 29., 43. und 51. Tag nach Versuchsbeginn wurden mehrzellige Stadien im Darmepithel der *Tubifex* beobachtet (Abb. 37). Diese werden hier als Vermehrungsstadien von *Triactinomyxon* angesprochen. Die Zahl der Zellen in diesen Stadien war unterschiedlich. Es wurden einzelne Zellen, zwei Zellen und bis 20 Zellen pro Darmepithelzelle beobachtet. Die Entwicklungsstadien waren rund und hatten einen großen Kern, der stets peripher im Cytoplasma lag.

Die Zeit vom Beginn des Versuches bis zur Feststellung von Pansporocysten und reifen Sporen von *Triactinomyxon* in Quetschpräparaten und histologischen Schnitten betrug 82 Tage.

Frühe Pansporocysten waren rundlich und enthielten kugelförmige Sporoblasten (Zygoten) (Abb. 38). In einigen Quetschpräparaten waren reife Pansporocysten aufgeplatzt. Dabei konnte die Freisetzung von den Triactinomyxon Sporen beobachtet werden (Abb. 39). Es ließ sich in Pansporocysten erkennen, daß sie 8 Sporoblasten enthielten, die unterschiedlich reif waren. Neben reifenden Sporen, die einen Amöboidkeim und drei Polkapseln enthielten, gab es solche, die noch als kugelige mehrzellige Sporoblasten vorlagen (Abb. 40). Freigesetzte Sporen wurden osmotisch entfaltet und nahmen Ankerform an (Abb. 41).

Frische reife Sporen von Triactinomyxon hatten Ankerform. Der Fortsatz war 3radial (Abb. 42). Vorn befanden sich drei Polkapseln. Unterhalb der Polkapseln lag der bewegliche Amöboidkeim, welcher 32 bis 50 Kerne (Sporozoitien) enthielt (Abb. 43). In den frischen Sporen konnte die Bewegung des Amöboidkeimes sehr gut beobachtet werden. Er zieht sich bis zur Verzweigung, so daß sich seine Kerne im gesamten Arm (Stiel) verteilten. Manchmal verlagerte sich der ganze Amöboidkeim zum Verzweigungspunkt, wo er kugelige Gestalt einnahm. In der Regel befand sich der Amöboidkeim jedoch direkt unterhalb der Polkapseln.

Am 94. Tag wurden lebende und tote Triactinomyxon-Sporen am Beckenrand und im Wasser festgestellt. Am Beckenrand sammelte sich eine dünne Schicht feinen Sandes und Detritus von eingegangenen Tubifex an. Diese wurde auf einen Objektträger gegeben und bei 10facher Vergrößerung untersucht. Dabei wurden tote Sporen von Triactinomyxon beobachtet, welche unbewegliche Amöboidkeime enthielten.

Die Gewinnung der Sporen aus dem Wasser geschah durch Entnahme einer Wasserprobe aus dem Planen-Sieb mit einer 1 ml-Spritze. Anschließend wurde die Wasserprobe auf einem Objektträger bei 10facher Vergrößerung untersucht. Dabei wurden vorwiegend lebende Sporen mit beweglichem Amöboidkeim und nur wenige tote beobachtet.

Die Vermessung der Sporen wurde nach dem in Abb. 36 gezeigten Schema durchgeführt. Bei Vermessung von 11 Triactinomyxon-Sporen lagen folgende Werte (in μm) für die Länge des Armes, in dem sich der Amöboidkeim befand, vor:

Mittelwert:	135,62
Stand. Abw.:	10,07
Fehler d. Mw.:	0,95
Max. Wert:	152,60
Min. Wert:	124,35

Die histologischen Untersuchungen der Tubifex-Würmer zeigten, daß die Entwicklung der Triactinomyxon im Darmepithel stattfand. Tubifex, die ab 82. und 102. Tag nach Versuchsbeginn histologisch verarbeitet wurden, zeigten in histologischen Schnitten Massen von Pansporocysten in den geschwollenen Darmepithelien (Abb. 44). Die gesamten Darmepithelzellen infizierter Segmente waren mit Pansporocysten gefüllt. Dadurch wurde der Kern zur Basis der Epithelzelle verdrängt. Der Zellkörper wurde weitgehend durch die Pansporocysten ausgefüllt, wodurch in der Peripherie nur ein schwacher Zytoplasmasaum blieb. Zu diesem Zeitpunkt wurden keine Triactinomyxon-Sporen im Darmlumen beobachtet.

Ab dem 130. Tag nach Versuchsbeginn wurden in histologischen Schnitten Triactinomyxon-Sporen häufiger im Darmlumen als im Darmepithel gefunden (Abb. 45 und 46).

Die Tubifex aus Kontrollbecken ohne Kontakt mit Myxobolus cerebralis Sporen erwiesen sich bei allen Untersuchungen in Quetsch- und histologischen Präparaten als negativ in bezug auf Actinosporea.

Versuch 2a: Infektion von Forellenbrut auf dem Wasserweg

Die Ergebnisse dieses Infektionsversuches sind in Tabelle 6 dargestellt.

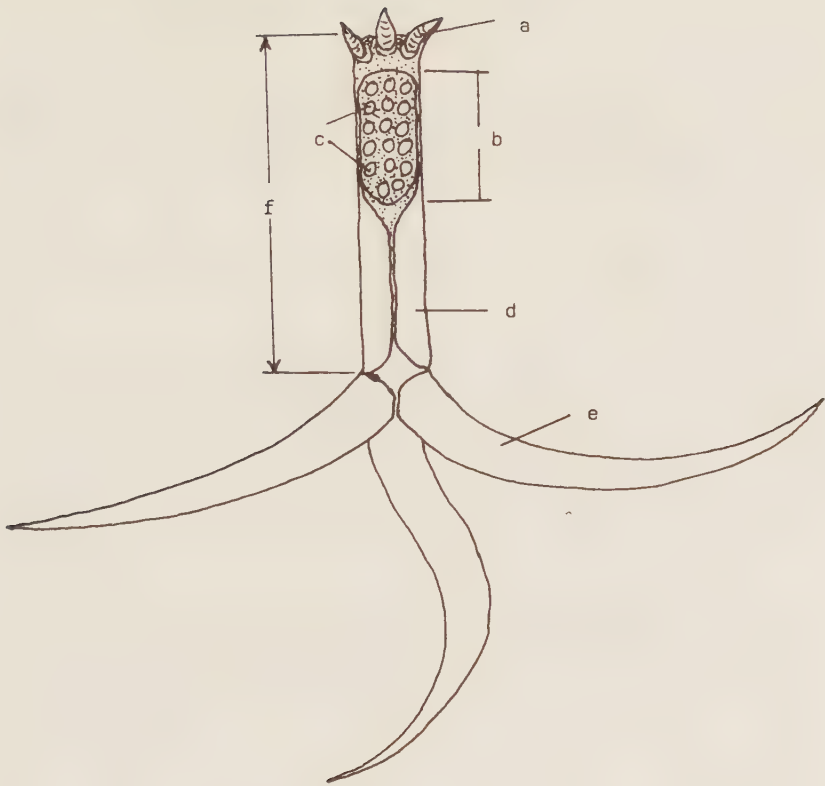


Abb. 36: Schematische Darstellung einer Triactinomyxon-Spore und der Meßparameter

- a = Polkapsel
- b = Epispore (Amöboidkeim)
- c = Sporozoiten
- d = Stiel
- e = ankerförmige Fortsätze
- f = Länge des gesamten Armes (Epispore + Stiel)

Im Verlauf dieses Infektionsversuches wurde als erste Krankheitserscheinung die Schwärzung des kaudalen Bereiches bei einer Regenbogenforellenbrut am 86. Tag nach Versuchsbeginn beobachtet.

Am 96. Tag zeigten weitere Fische Schwarzfärbung des Schwanzteiles und typische Drehbewegungen an. Diese Krankheitsmerkmale blieben bei den drei Fischen (Fisch Nr. 1, 2 und 4) bis zum Tag der Sektion sichtbar (Tabelle 6).

Fisch Nr. 3 zeigte weder Schwarzfärbung des kaudalen Bereiches noch Drehbewegungen.

Sowohl die Untersuchungen der vom Kopfknochen angefertigten Quetschpräparate als auch die histologischen Schnittpräparate ergaben bei allen 4 Fischen Sporen *Myxobolus cerebralis*. Die Sporen waren in noch nicht verknöcherten Knochenanteilen des Schädels und im Kiemenknochen zu beobachten und entsprachen voll den Beschreibungen in der Literatur. Die Befallsintensität bei Fisch Nr. 2 war mittelgradig, bei Fisch Nr. 4 hochgradig.

Als hochgradig wurde ein Befall bezeichnet, bei dem sich bei vierzigfacher Vergrößerung eines Quetschpräparates in jedem Blickfeld mehr als 5 Sporen befanden. Bei mittelgradigem Befall gab es unter gleichen Bedingungen nur 1 bis 2 Sporen pro Blickfeld.

Versuch 2b: Orale Infektion der Forellenbrut

In diesem Infektionsversuch traten *Myxobolus cerebralis* Sporen erstmalig in einem Quetschpräparat von Operculum und Kopfknochen bei Fisch Nr. 2 am 95. Tag nach Versuchsbeginn. Dieser Fisch zeigte weder Schwarzfärbung des kaudalen Bereiches noch Drehbewegungen.

Am 95. Tag zeigte der Fisch Nr. 3 Schwarzfärbung des Schwanzteiles und typische Drehbewegungen.

Tabelle 6: Übertragung von *Myxobolus cerebralis* durch
triacinomyxonhaltige Tubifex auf
Regenbogenforellenbrut - Wasserweg

Fisch Nr.	Erste Krankheits- erscheinung, Tag nach Versuchsbeginn	Sektion der Fische, Tag nach Versuchs- beginn	Nachweis von <i>M. cerebralis</i> - Sporen
1	86	120	++
2	96	116	++
3	-	140	+++
4	96	172	+++

++ = mittelgradiger Befall

+++ = hochgradiger Befall

Tabelle 7: Übertragung von *Myxobolus cerebralis* durch
triacinomyxonhaltige Tubifex auf gesunde
Regenbogenforellenbrut - orale Infizierung

Fisch Nr.	Erste Krankheits- erscheinung, Tag nach Versuchsbeginn	Sektionen der Fische, Tag nach Versuchs- beginn	Nachweis von <i>M. cerebralis</i> Sporen
1	-	60	-
2	-	95	++
3	95	102	+++
4	-	115	++
5	-	118	+++
6	-	121	-
7	-	131	+++

Die Fische Nr. 2, 4, 5, 6 und 7 zeigten bis zum Tag der Sektion weder Schwarzfärbung noch Drehbewegungen (Tabelle 7). Fisch Nr. 1 ging am 60. Tag nach Versuchsbeginn ein. Wegen Autolyse konnte dieser Fisch nur nativ-mikroskopisch untersucht werden. Dabei wurden keine *Myxobolus cerebralis*-Sporen festgestellt.

Mit Ausnahme von Fisch Nr. 6 waren die nativ-mikroskopischen Untersuchungen der Quetschpräparate und die histologischen Untersuchungen bei allen anderen getöteten Fischen positiv in bezug auf *Myxobolus cerebralis*. Die Lokalisation der Sporen war wie bei den Forellen im Versuch 2a. Die Befallsintensität ist in Tabelle 7 aufgezeichnet.

Außer im Kopfknochen wurden keine Sporen von *Myxobolus cerebralis* in anderen Lokalisationen festgestellt.

Versuch 3: Direkte Infizierung von Mühlkuppen mit *Myxobolus cotti*

Die mikroskopischen Untersuchungen des Mühlkuppenkotes zeigten, daß die Sporen von *Myxobolus cotti* durch den Verdauungstrakt der Mühlkoppe unverändert mit dem Kot ausgeschieden worden waren.

Eine weitere Untersuchung dieser Kuppen erfolgte nicht.

Versuch 4: Übertragung von *Myxobolus cotti* durch Oligochaeten des Genus *Tubifex* auf *Myxosporea*-freie Mühlkuppen

4.1. Infektion von *Tubifex* spp. mit *M. cotti*

Bei den nativ-mikroskopischen Untersuchungen der Quetschpräparate von *Tubifex* aus dem Aquarium, welches Sporen von *Myxobolus cotti* enthielt, wurden zunächst am 20. Tag nach Versuchsbeginn intakte Sporen von *Myxobolus cotti* im Darmlumen der *Tubifex* beobachtet.

Am 40. und 62. Tag nach Versuchsbeginn wurden mehrzellige Stadien im Darmepithel der *Tubifex* gefunden (Abb. 47). Diese werden hier wie im Versuch 2 als Vermehrungsstadien von *Triactinomyxon* angesprochen. Die Zahl der Zellen in diesen Stadien war

unterschiedlich. Es wurden zwischen 2 und 20 Zellen im Darm-epithel beobachtet. Die Zellen waren rund und fielen durch ihre stärkere Lichtbrechung und die laterale Lokalisation der Kerne auf. Meistens waren Teilungsprozesse zu beobachten. Dabei waren die Kerne eingeschnürt oder bereits fast vollständig zweigeteilt. Die Einschnürung der Kerne und auch des Zytoplasma erfolgte gleichzeitig (Abb. 47).

Die Zeit vom Beginn des Versuchs bis zur ersten Feststellung von Pansporocysten und reifen Sporen von *Triactinomyxon* betrug 80 Tage.

Frühe Pansporocysten waren rundlich und enthielten 8 runde Sporoblasten (Zygoten), die noch nicht differenziert waren (Abb. 48). Neben diesen frühen Pansporocysten gab es solche, die kugelförmig waren und 8 Sporoblasten mit bereits gebildeten Polkapseln aufwiesen (Abb. 49). Die Arme der 8 reifenden Sporen lagen zusammengefoldet innerhalb der Pansporocysten.

Sporen von *Triactinomyxon*, die aus einem Homogenat von *Tubifex*-Würmern gewonnen worden waren, hatten ankerförmige Gestalt (Abb. 50) und besaßen am oberen Pol drei Polkapseln. Unter den drei Polkapseln befand sich der Amöboidkeim, welcher 16 rundliche Sporozoiten enthielt (Abb. 51).

Am 97. Tag nach Versuchsbeginn wurden lebende und tote Sporen von *Triactinomyxon* aus dem Wasser gewonnen. Dies geschah wie im Versuch 2 aus der Kammer. Die toten Sporen hatten unbewegliche Amöboidkeime. Hingegen hatten die lebenden Sporen bewegliche Amöboidkeime. Diese Sporen sahen morphologisch bezüglich des Amöboidkeimes anders als die vom *Tubifex*-Homogenat beschriebene *Triactinomyxon*-Art aus. Sie enthielten nur einen Amöboidkeim mit 8 deutlich größeren und rundlichen Sporozoiten (Abb. 52).

Die Sporen wurden nach dem in Abb. 36 gezeigten Schema gemessen. Bei Vermessung von 10 *Triactinomyxon* Sporen lagen folgende Werte (in μm) für die Länge des Armes, in dem sich der Amöboidkeim befand, vor:

Mittelwert:	88,64
Stand. Abw.:	4,76
Fehler d. Mw.:	0,69
Max. Wert:	93,93
Min. Wert:	79,64

Die histologischen Untersuchungen der Tubifex-Würmer zeigten, daß die Entwicklung der Triactinomyxon im Darmepithel stattfindet. In der Leibeshöhle oder in den Geschlechtsorganen wurden die Pansporocysten oder die reifen Sporen nie beobachtet.

Die Tubifex, die zwischen 80. und 120. Tag nach Versuchsbeginn histologisch untersucht wurden, zeigten Massen von Pansporocysten in hyperplastischen Darmepithelien (Abb. 53). Im Darmlumen befanden sich keine Sporen von Triactinomyxon. Erst ab dem 127. Tag konnten reife Sporen von Triactinomyxon im Darmlumen beobachtet werden (Abb. 54).

Die Kontrolltubifex aus dem Aquarium, welches keine Sporen von Myxobolus cotti enthielt, erwiesen sich sowohl in Quetschpräparaten als auch histologisch als frei von Actinosporea. Die Untersuchungszeitpunkte waren identisch mit denen im Versuchsbecken. Nach 130 Tagen wurden die restlichen Tubifex aus dem Kontrollaquarium isoliert und in Quetschpräparaten nativ-mikroskopisch untersucht. Dabei wurden weder Entwicklungsstadien noch reife Sporen von Triactinomyxon gefunden.

Versuch 4a: Übertragung von Myxobolus cotti durch den Wasserweg auf Myxosporea-freie Mühlkuppen

Im Verlauf dieses Versuchs zeigten die Kuppen normales Verhalten. Sie versteckten sich zwischen den Steinen am Beckenboden und hatten sich der Färbung der Steine entsprechend angepaßt.

Die nativ-mikroskopische und die histologischen Untersuchungen des Zentralnervensystems und der Organe (130 Tage nach Transfer von Kuppen zu den Tubifexbecken) zeigten eine Infektion mit Myxobolus cotti im Rückenmark bei einer Koppe. Die Sporen

lagen zwischen den Nervenfasern und waren identisch mit denen von Mühlkoppen aus dem Königssee. Das zentrale Nervensystem und alle anderen Organe der anderen zwei Mühlkoppen sowie das Gehirn und die parenchymatösen Organe der infizierten Mühlkoppe erwiesen sich als frei von Myxosporea.

Versuch 4b: Übertragung von Myxobolus cotti durch den Wasserweg
auf gesunde Regenbogenforellenbrut

Im Laufe dieses Versuchs zeigten die 7 Regenbogenforellenbrütlinge weder Krankheitserscheinungen noch Verhaltensstörungen. Sowohl die nativ-mikroskopischen Untersuchungen der Quetschpräparate von den parenchymatösen Organen, ZNS, Knorpel und Muskulatur noch die histologischen Untersuchungen der 60., 80., 91. 130. (2) und 138. (2) Tage nach Kontakt mit den infizierten Tubifex verliefen negativ in bezug auf Myxosporea.

Abb. 37: Tubifex infiziert mit *M. cerebralis* (Quetschpräparat)
(43 Tage nach Versuchsbeginn)

Quetschpräparat mit frühen Entwicklungsstadien (→)
von *Triactinomyxon gyrosalmo* im Darmepithel

Vergr.: 700 x

Abb. 38: Tubifex infiziert mit *M. cerebralis* (Quetschpräparat)
(82 Tage nach Versuchsbeginn)

Früher Pansporocyst (FP) mit kugelförmigen
Sporoblasten (Zygoten) aus dem Darmepithel

Vergr.: 590 x

Abb. 39: Tubifex infiziert mit *M. cerebralis* (Quetschpräparat)
(82 Tage nach Versuchsbeginn)

Aufgeplatzte Pansporocyste (P) mit unterschiedlich
reifen Sporoblasten (S) frühe Sporoblasten,
(T) schlüpfende reifende Sporen von *Triactinomyxon*
gyrosalmo

Vergr.: 590 x

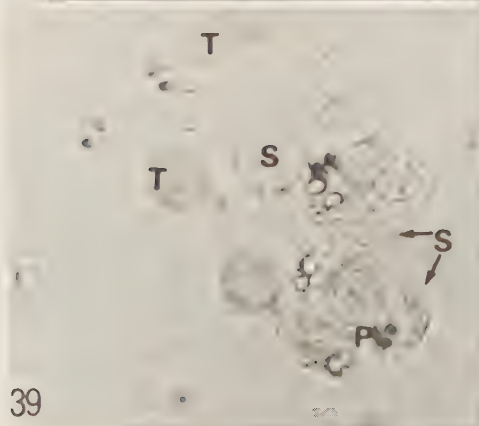
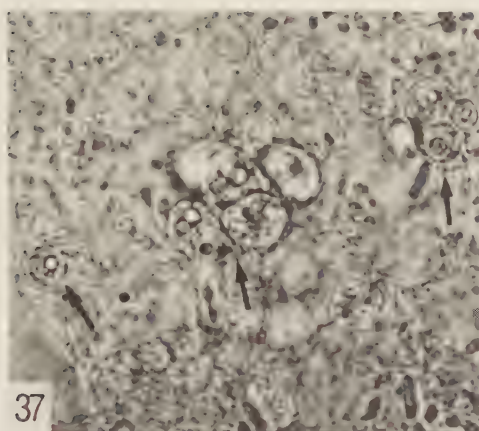


Abb. 40: Tubifex infiziert mit *M. cerebralis* (Quetschpräparat)
(82 Tage nach Versuchsbeginn)

(P) Pansporocyst mit unterschiedlich reifen Sporoblasten-Stadien, (T) reifende *Triactinomyxon gyrosalmo*-Sporen

Vergr.: 480 x

Abb. 41: Reifende *Triactinomyxon*-Sporen (Nativpräparat)

In diesem Quetschpräparat sind die die reifen Pansporocysten aufgeplatzt. Man erkennt, wie die reifenden Sporen von *Triactinomyxon gyrosalmo* sich unter osmotischem Einfluß entfalten.

Vergr.: 480 x

Abb. 42: Reife Spore von *Triactinomyxon gyrosalmo* (Nativpräparat)

Die Spore hat die Gestalt eines dreifachen radial-symmetrischen Ankers. Vorn befinden sich die drei Polkapseln (P), (A) Amöboid-beweglicher Keim

Vergr.: 296 x

Abb. 43: Reife Sporen von *Triactinomyxon gyrosalmo* (Nativpräparat)

Der Amöboidkeim enthält 32 bis 50 Kerne (Sporozoiten)

Vergr.: 296 x

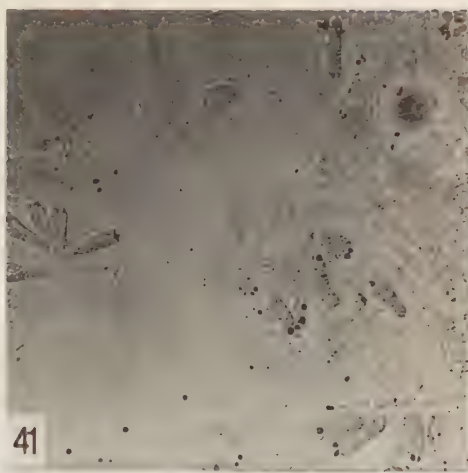
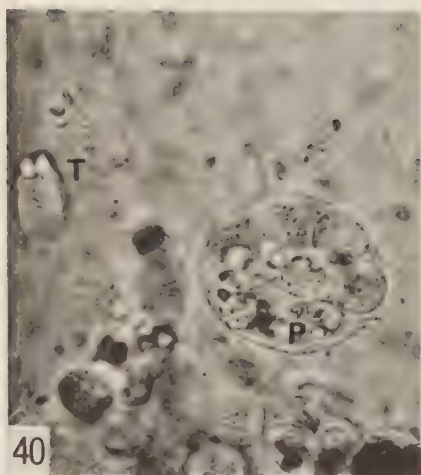


Abb. 44: Querschnitt durch einen Tubifex (Paraffinschnitt)
(82 Tage nach Versuchsbeginn)

Das Darmepithel ist voll mit Pansporocysten von Triactinomyxon (→)

Färbung: Giemsa

Vergr.: 300 x

Abb. 45 Längsschnitt durch einen Tubifex (Paraffinschnitt)
(130 Tage nach Versuchsbeginn)

Die quer- und längsgeschnittenen Triactinomyxon-Sporen (→) sind im Lumen des Darmkanals

Färbung: Giemsa

Vergr.: 59 x

Abb. 46: Ausschnitt aus Abb. 45

(P) Polkapseln von Triactinomyxon, (QT) quergeschnittene Triactinomyxon Sporen (LT) längsgeschnittene Triactinomyxon Sporen

Vergr.: 600 x

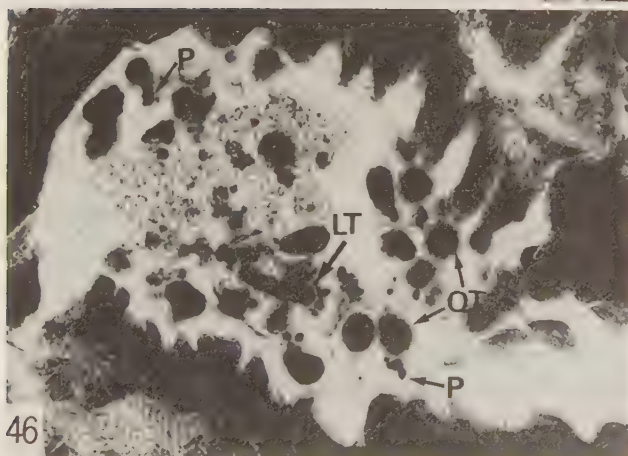
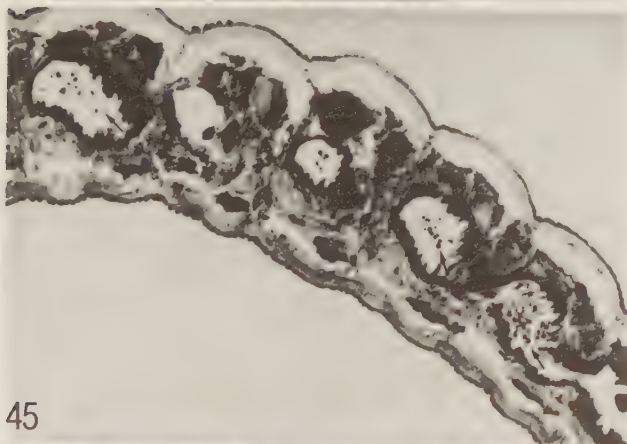
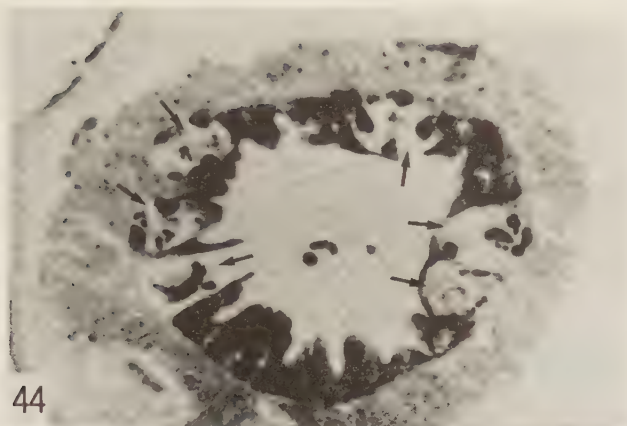


Abb. 47: Darmepithel eines Tubifex infiziert mit *M. cotti*
(Quetschpräparat) (40 Tage nach Versuchsbeginn)

Mehrzelliges frühes Entwicklungsstadium (ES) von *Triactinomyxon* mit lateral liegenden Zellkernen

Vergr.: 925 x

Abb. 48: Tubifex infiziert mit *M. cotti* (Quetschpräparat)
(80 Tage nach Versuchsbeginn)

Früher Pansporocyst (FP) mit 8 kugeligen Sporoblasten
(ES) frühe Entwicklungsstadien, (T) reifende *Triactinomyxon* Spore

Vergr.: 925 x

Abb. 49: Reifender Pansporocyst aus einem Quetschpräparat von
infizierten Tubifex
(80 Tage nach Versuchsbeginn)

Zusammengefaltete *Triactinomyxon* Sporen. (→) Pol-
kapseln, (S) noch nicht differenzierter Sporoblast

Vergr.: 1200 x

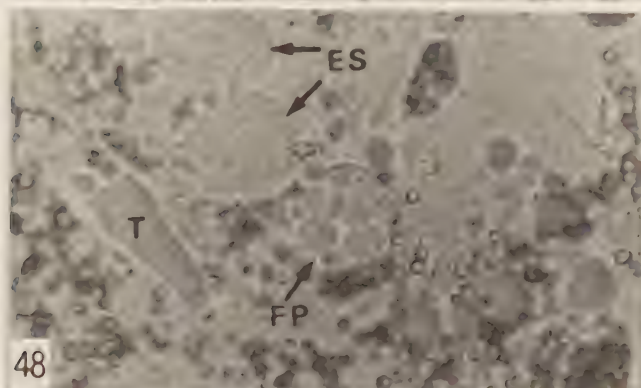
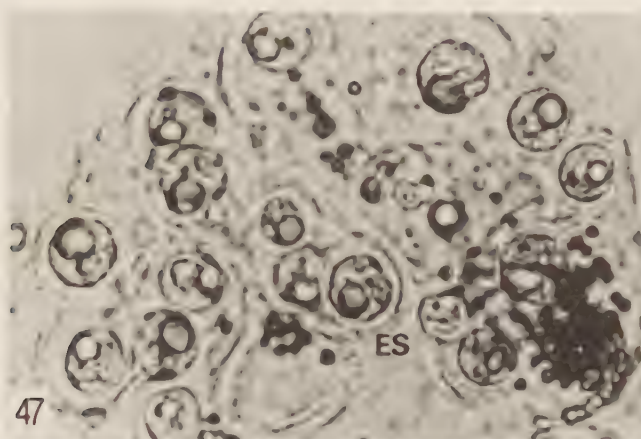


Abb. 50: Reife Spore von *Triactinomyxon myxoboli cotti* (nativ, aus einem Homogenat, 90 Tage nach Versuchsbeginn)

Vergr.: 590 x

Abb. 51: Ausschnitt aus Abb. 50

Das Vorderteil der *Triactinomyxon*-Spore
(A) Amöboidkeim mit 16 Kernen,

Vergr.: 925 x

Abb. 52: Das Vorderende einer *Triactinomyxon myxoboli cotti*-Spore (nativ, aus dem Wasser gewonnen, 97. Tag nach Versuchsbeginn)

(A) Amöboidkeim mit 8 kugelförmigen Kernen,
(P) Polkapseln

Vergr.: 1 200 x

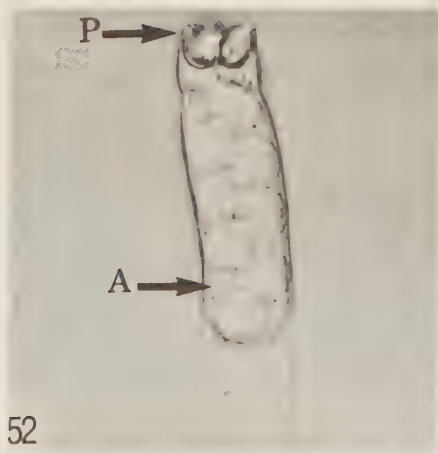


Abb. 53: Tubifex infiziert mit *M. cotti* (Paraffinschnitt)
(80. Tag nach Versuchsbeginn)

Massenhafte Infektion der Darmepithelien mit Pansporocysten von *Triactinomyxon myxoboli cotti*

Färbung: Giemsa

Vergr.: 300 x

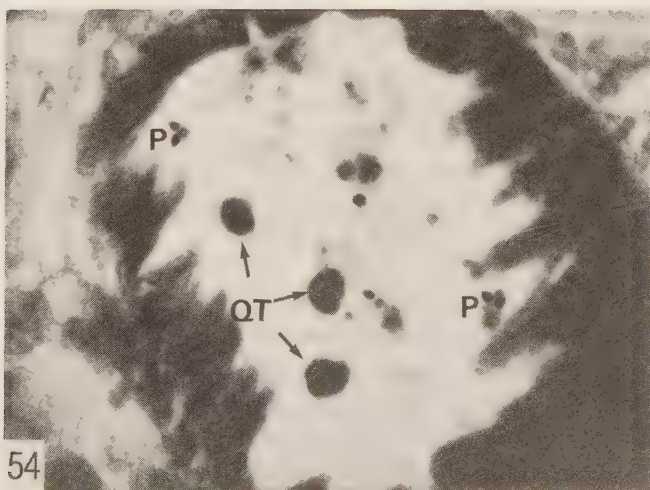
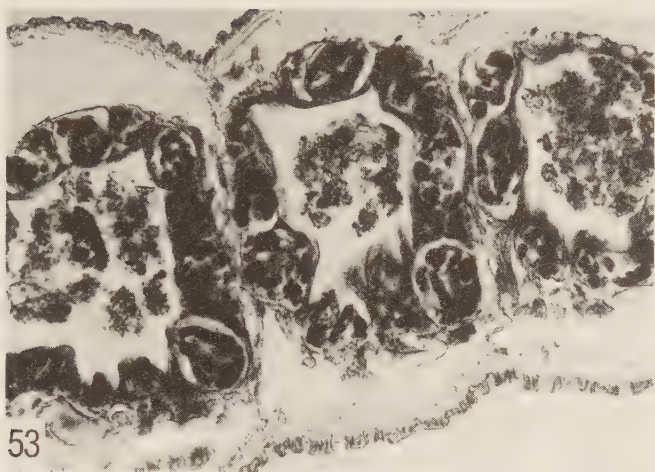
Abb. 54: Tubifex infiziert mit *M. cotti* (Paraffinschnitt)
(127. Tag nach Versuchsbeginn)

Quergeschnittene Sporen von *Triactinomyxon myxoboli cotti* (QT) im

Darmlumen, (P) Polkapseln

Färbung: Giemsa

Vergr.: 600 x



V. Zusammenfassung der Ergebnisse und Diskussion

A. Myxosporea bei der Mühlkoppe "Cottus gobio"

Bei den Untersuchungen von 169 Mühlkoppen aus zwei Regionen (Königssee/Obersee und Bayerischer Wald) haben 90 eine Infektion des Zentralnervensystems mit *Myxobolus cotti* El-Matbouli und Hoffmann 1987 gezeigt. Da in der Literatur 11 andere *Myxobolus*-Spezies aus dem Zentralnervensystem verschiedener Teleostee beschrieben sind, sollen die taxonomische Stellung und die Morphologie von *Myxobolus cotti* im folgenden erläutert und mit diesen Myxobolidae verglichen werden.

1. Myxobolus cotti und dessen taxonomische Stellung

Seit der Entdeckung der Myxosporea durch den deutschen Forscher J. Müller im Jahre 1838 und bis in die 60er Jahre des 20. Jahrhunderts wurde die Beschreibung und Klassifizierung dieser Parasiten anhand von fixiertem Material durchgeführt. Nach Lom (1969) sind mehr als 180 Spezies des Genus *Myxobolus* bei Teleosteen durch Zeichnungen beschrieben und dargestellt, die von fixiertem Material angefertigt worden sind. In seiner Arbeit weist er aber darauf hin, daß die Morphologie der Sporen nur anhand frischer Sporen mit Mikrophotographien und Handzeichnungen dokumentiert werden sollte. Diese Darstellung anhand frischen Materials ist nach Lom et al. (1982) als wichtiges Kriterium für die Bestimmung der Myxosporea zu werten, da durch die Verwendung fixierten Materials eine Veränderung der Sporengröße nicht auszuschließen ist.

Frische reife Sporen von *Myxobolus cotti*, die anhand dieser Kriterien bestimmt wurden, sind in der Regel eiförmig und am vorderen Ende leicht zugespitzt. Gelegentlich weisen die Sporen eine mehr rundliche Form auf. Sie sind von einer 0,8 µm dünnen Schleimhülle umgeben. Die Polkapseln sind birnenförmig und annähernd gleich groß. Sie liegen am Apex der Spore und erstrecken sich etwa über zwei Drittel der Spore. Am vorderen Ende

der Spore bilden die zwei Schalenklappen einen dreieckigen Vorsprung zwischen den beiden Mündungen der zwei Polkapseln. Die Polfilamente liegen in 8 Windungen mit einem Winkel von ca. 45° zur Längsachse der Spore innerhalb der Polkapseln. Die Maße der einzelnen Sporenteile sind in Tabelle 5 aufgeführt. Die mehrsporigen Trophozoiten von *M. cotti* sind meist länglich und liegen zwischen den Nervenfasern von Rückenmark und Gehirn der Mühlkoppe.

Da *M. cotti* nur im Zentralnervensystem der Mühlkoppe vorkommt und in keinem anderen Organ nachgewiesen wurde, wird diese Spezies als neurotrop betrachtet. Gemäß den Ergebnissen und den oben beschriebenen morphologischen Eigenschaften wird *M. cotti* daher als neue Spezies folgendermaßen zugeordnet:

Stamm: Myxozoa Grassé, 1960
Klasse: Myxosporea Bütschli, 1881
Ordnung: Bivalvulida Shulman, 1959
U. Ordnung: Platisporina Kudo, 1919
Familie: Myxobolidae Thélohan, 1892
Genus: Myxobolus Bütschli, 1882
Spezies: Myxobolus cotti

(Nach Levine et al. 1980 und Löm & Noble 1984)

Während des 2nd International Symposium of Ichthyoparasitology, 1987 in Tihany, wurde von Dykova und Löm ebenfalls eine aus dem ZNS von Koppen stammende *Myxobolus* sp. vorgestellt, die nach ausführlicher Diskussion als identisch mit *M. cotti* angesehen wird.

Die mit Lugol'scher Lösung behandelten frischen reifen Sporen von *M. cotti* zeigen diffus verteilt amorphes Material im gesamten Sporoplasma. Eine scharf abgegrenzte jodophile Vakuole ist lichtmikroskopisch nicht darstellbar.

Histochemische Untersuchungen an *Myxobolus pseudodispar*, *M. cyprini*, *M. mülleri* und *Myxosoma heterospora* von Walliker (1968) zeigen, daß das Vorhandensein einer jodophilen Vakuole

kein verlässliches Kriterium für die Trennung der Genera *Myxobolus* und *Myxosoma* ist. Löm & Noble (1984) unterstützen Walliker's Meinung und bestätigen, daß *Myxosoma* mit *Myxobolus* gleichzusetzen sei. Seither wird in der Literatur häufiger *Myxobolus cerebraalis* als *Myxosoma cerebraalis* aufgeführt.

Die Einordnung in das Genus *Myxobolus* für *Myxobolus cotti* ist daher begründet.

Im Zentralnervensystem der Teleosteer sind in der Literatur insgesamt 11 Spezies des Genus *Myxobolus* beschrieben (vgl. Tab. 3, S. 27). Die frischen reifen Sporen von *M. cotti* unterscheiden sich sowohl morphologisch (Größe der einzelnen Sporenteile) als auch durch ihr Vorkommen im gesamten Zentralnervensystem von allen bisher beschriebenen *Myxobolidae* aus dem Gehirn oder Rückenmark der Teleosteer (vgl. Tab. 3 und 5, S. 39).

Myxobolus neurobius Schuberg und Schröder, 1905 im Rückenmark von Salmoniden; *M. encephalicus* Mulsow, 1911 im Gehirn von Karpfen (*Cyprinus carpio*); *M. bilineatum* Bond, 1938 in Gehirn und Niere von Blaubandkärpfling (*Fundulus heteroclitus*) und *M. kisutchi* Yasutake und Wood, 1957 im Rückenmark von Silberlachs (*Oncorhynchus kisutch*) sind viel kleiner als *M. cotti* (vgl. Tab. 3 und 5).

M. subtecalis Bond, 1938 im Gehirn, Flossen und Niere von Blaubandkärpfling; *M. inaquus* Kent und Hoffman, 1984 im Gehirn vom grünen Messerfisch (*Eigenmannia virescens*) und *M. hendricksoni* Mitchell und Seymor, 1985 im Gehirn von Fettkopfelritze sind dagegen größer als *M. cotti* (vgl. Tab. 3 und 5). *M. farionis* Gonzalez-lanza und Alvarez-Pellitero, 1984 im Rückenmark und Gehirn von Bachforellen (*Salmo trutta*) ist die einzige Spezies, welche abgesehen vom Wirt ähnliche Lokalisation wie *M. cotti* aufweist. Aber die Maße der Sporenteile von *M. farionis* sind wesentlich kleiner als die von *M. cotti* (vgl. Tab. 3 und 5).

2. Morphologie

2.1. Rasterelektronenmikroskopie

Obwohl wichtige Eigenschaften von *Myxosporea*-Sporen mit dem Rasterelektronenmikroskop (REM) deutlich dargestellt werden können, sind derartige Untersuchungen nach der vorliegenden Literatur kaum durchgeführt worden.

Die äußere Form der Sporen von *M. cotti* sowie die Art des Zusammentreffens der zwei Schalenklappen und die Bildung der Randnaht sind im REM deutlich sichtbar.

Lateral gesehen haben die Sporen eine linsenförmige Gestalt. Die Sporenschale besteht aus zwei Klappen, die gewölbt sind und sich in einer die Spore umgebenden Nahtlinie treffen. Im Bereich der Nahtlinie verdicken sich die zwei Klappen und bilden eine Randnaht um die Spore. An beiden Schalenklappen befinden sich 8 bis 10 dreieckige Falten. Diese münden in eine die Spore umgebende Furche unterhalb der Randnaht.

Von den 11 in der Literatur beschriebenen *Myxobolus*-Spezies aus dem ZNS der Teleostee befinden sich bei der einzigen mit REM untersuchten Art, *Myxobolus hendricksoni*, an beiden Schalenklappen 4 bis 5 dreieckige Falten (Mitchell et al. 1985). Diese münden direkt in die Randnaht. Eine Furche unterhalb der Randnaht wie bei *M. cotti* existiert bei *M. hendricksoni* nicht.

Nach Lôm und Hoffman (1971) befindet sich eine derartige Furche um die Sporen von *M. cerebralis*, fehlt aber bei *M. cartilaginis*. Weiter erklären die Autoren, daß die mit Tusche darstellbare Schleimhülle um die Sporen von *M. cerebralis* im REM-Bild sehr eindeutig am hinteren Ende der Sporen zu erkennen ist. Desser und Paterson (1978) beschreiben eine Schleimhülle am hinteren Ende der Sporen von *Myxobolus* sp. bei *Notropis cornutus* im REM-Bild. Bei *M. cotti* ist die schmale (0,8 µm) Schleimhülle im REM-Bild nicht sichtbar. Auch bei *M. hendricksoni* ist die

Schleimhülle (0,1 - 1,5 μm) im REM-Bild nicht zu erkennen (Mitchell et al. 1985). Da bei *M. cotti* und *M. hendricksoni* die Schleimhülle dünner ist als bei *M. cerebralis* und *M. car-tilaginis*, geht diese möglicherweise durch die Aufbereitung der Sporen für die REM-Untersuchung verloren.

2.2. Histologie

Große mehrsporige Trophozoiten von *M. cotti* sind im gesamten Zentralnervensystem der Mühlkoppe zu finden. Sie liegen zwischen den Nervenfasern im Rückenmark und im Gehirn. Im Rückenmark kommen sie sowohl in der weißen als auch in der grauen Substanz vor. Dagegen liegen nach Schuberg und Schröder (1905) die Sporen von *M. neurobius* im Rückenmark der Bachforelle in den Nervenfasern zwischen der Schwann'schen und der Markscheide. Im Gehirn kommen die Trophozoiten von *M. cotti* im Telencephalon, Mesencephalon, Cerebellum und in der Medulla oblongata vor, wobei die Befallsintensität im Telencephalon, Mesencephalon und Cerebellum gering ist. Wenn das Gehirn infiziert ist, ist auch die Medulla oblongata hochgradig befallen.

Nach Mitchell et al. (1985) bilden die Sporen von *M. hendricksoni* im Gehirn der Fettkopfelritze (*Pimephalis promelas*) makroskopisch große Zysten von 0,1 bis 1,5 mm Durchmesser und sind im Lobus opticus, Cerebellum, Ventrikel und Bindegewebe der Meningen verteilt. Wobei im letzteren die Sporenhaufen von einer lockeren Infiltration von Monozyten, Fibrozyten und Rod-letzellen begleitet sind. Im Gegensatz dazu sind die Trophozoiten von *M. cotti*, ob im Gehirn oder Rückenmark, makroskopisch nicht feststellbar. Auch kommt *M. cotti* in der meningealen Membran (*Meninx primitiva*) nicht vor.

Mulsow (1911) berichtet über eine Verhaltensstörung der Karpfenbrut durch den Befall mit *Lentospora encephalica* Mulsow (Syn. *Myxobolus encephalicus* Löm und Noble, 1984). Diese Sporen manifestieren sich ausschließlich in Blutgefäßen des Gehirns. Nach Dykova et al. (1986) können die Blutgefäße in Meningen und

Gehirn der Karpfenbrut durch die Entwicklungsstadien von *M. encephalicus* erweitert werden und thrombosieren.

Die Autoren beschrieben eine durch das Anhaften der frühen Entwicklungsstadien am Endothel der Blutgefäße hervorgerufene Hyperplasie der Endothelzellen, welche auch nach der Ablösung dieser Entwicklungsstadien weiterbesteht. Im Unterschied dazu verdrängen die mehrsporigen Trophozoiten von *M. cotti* große Anteile vom Gehirn- und Rückenmarksgewebe, selbst ohne offensichtlich die Blutversorgung zu beeinträchtigen. Dabei können die Trophozoiten über 50 % der Schnittfläche des Gehirn- und Rückenmarksgewebes ausfüllen. Sie liegen meistens ohne Gewebereaktion zwischen den auseinandergedrängten Nervenfasern. Nur selten ist eine lockere Infiltration mit Gliazellen um die Sporenaggregate zu beobachten. Diese fehlende Reaktion ist zunächst erstaunlich, da der Parasit einen Fremdkörper darstellt, der normalerweise abgestoßen werden sollte. Eine Erklärung für das Fehlen derartiger Reaktionen könnte der Einbau wirtseigener Bestandteile zunächst in die Oberfläche des Parasiten sein, so daß keine fremden Oberflächenantigene dem Immunsystem dargeboten werden. Wann dies erfolgt, kann derzeit noch nicht erkannt werden. Ähnliche Oberflächenantigenwechsel spielen sich beispielsweise auch bei dem Malariaerreger ab (Kreier & Ristic, 1984)

Das Fehlen entzündlicher Reaktionen kann auch eine Erklärung für den Mangel an klinischen Störungen sein, wie er neben von *M. cotti* infizierten Koppen auch von mit *M. hendricksoni* befallenen Fettkopfelritzen bekannt ist (Mitchell et al. 1985).

2.3. Ultrastruktur (TEM) von *Myxobolus cotti*

Die Ultrastruktur der verschiedenen Entwicklungsstadien bis zu den reifen Sporen innerhalb der Familie Myxobolidae ist sehr ähnlich.

Das früheste beobachtete Entwicklungsstadium von *M. cotti* ist dreizellig. Dabei liegen zwei Zellen mit ihrer dünnen Membran eng nebeneinander und sind von einer dritten Zelle umgeben. Die drei Zellen enthalten zahlreiche ovale Mitochondrien vom tubulären Typ und sind reich an Ribosomen. Daher kann dieses Stadium als Zwischenstufe zur Entwicklung eines mehrsporigen Trophozoiten angesprochen werden.

Nach Noble (1943 und 1944); Löm & Puytorac (1965); Löm (1969); Current (1979) und Current et al. (1979) wird die frühe Entwicklung der Myxosporea als vegetative Vermehrung aufgefaßt. Bei diesem Vorgang werden mehrsporige Plasmodien gebildet, welche vegetative und generative Kerne beinhalten. Während die generativen Kerne von Zytoplasma und Zellmembran umgeben sind, bleiben die vegetativen frei im Zytoplasma der Plasmodien. Die Autoren weisen darauf hin, daß nur die generativen Zellen am Sporenbildungsprozeß beteiligt sind. Nach Shulman (1966) haben die vegetativen Kerne im Plasmodium eine Ernährungsfunktion.

Nach Molnar (1986) ist das früheste Entwicklungsstadium von *Sphaerospora renicola* ein einzelliger Trophozoit, welcher seine Entwicklung in der Schwimmblase beginnt. Diese nennt er Mutterzelle. In dem einzelligen Trophozoiten werden durch innere Teilung 20 bis 40 Sekundärzellen gebildet. Parallel zum Wachstum der Mutterzelle und der Bildung der sekundären Zellen findet eine endogene Vermehrung statt, und es entstehen im Zytoplasma der Sekundärzellen je zwei Tertiärzellen. Eine Sekundärzelle mit zwei Tertiärzellen entspricht dem Pseudoplasmodium mit den zwei Sporoblastzellen von *Sphaerospora renicola*, welche über das Blut durch die Glomerula ins Lumen der Nierentubuli transportiert werden. Zu den vegetativen Kernen innerhalb eines Plasmodiums bemerkt Molnar (1986), daß diese keine Ernährungsfunktion haben, sondern in späteren Stadien der Entwicklung bilden sie Zellstadien und haben dieselbe Funktion wie die Sekundärzellen von *Sphaerospora renicola*.

Im vorliegenden Material konnten mit einer Ausnahme nur Mühlkoppen mit hochgradiger spontaner Infektion untersucht werden, wobei nur das oben beschriebene 3-Zellstadium beobachtet wird. Damit sind die Fragen über deren Entstehung und vor allem über das Problem, welche Stadien in das ZNS auf welchem Weg eindringen, noch offen. Dies ist jedoch von entscheidender Bedeutung, auch für die Frage der oben diskutierten Immunreaktion. Eine Abklärung ist nur an laborinfizierten Fischen möglich.

2.3.1. Sporenbildungsstadium "Sporogenese"

Die großen mehrsporigen Trophozoiten von *M. cotti* liegen zwischen auseinandergedrängten Nervenfasern im Rückenmark und im Gehirn. Sie enthalten hauptsächlich reifende und reife Sporen. Unter diesen befinden sich frühe Pansporoblasten und Sporoblasten, welche Zellen für die Bildung der verschiedenen Sporenteile enthalten. Diese frühen Stadien (Pansporoblasten und Sporoblasten) sind reicher an Ribosomen gegenüber den im vorherigen Abschnitt beschriebenen 3-Zellstadium. Lôm und Dykova (1982) bemerken, daß diese Erscheinung für alle Myxosporea-Spezies gilt. Die frühen Pansporoblasten haben in der Regel immer eine bestimmte Zellzahl für die spätere Entwicklung von zwei Sporen, d.h., sie beinhalten 12 Zellen.

In den frühen Sporoblasten lassen sich Strukturunterschiede in den einzelnen Zellen feststellen. Diese Unterschiede werden bei der Beschreibung der Entwicklung der verschiedenen Zelltypen getrennt erläutert.

2.3.1a. Entwicklung der Klappenzellen

Nach Lôm & Puytorac (1965), Schubert (1968), Lôm (1969), Desser und Paterson (1978), Yamamoto & Sanders (1979) und Lôm et al. (1982) sind die zwei Klappenzellen erst zu dem Zeitpunkt erkennbar, wenn sie die Sporenanlage umgeben. Im Gegensatz dazu lassen sich die zwei Klappenzellen von *M. cotti*, schon bevor sie sich um die Sporenanlage ausdehnen, durch die längliche Form und die Lokalisation des Kernes gegenüber den anderen Zellen abgrenzen.

In späteren Stadien beginnen sich die zwei Klappenzellen durch Zytoplasmaausläufer um die anderen 4 Zellen der Sporenanlage auszudehnen. Demzufolge treffen sich die zwei Klappenzellen in einer die Spore umgebenden Nahtlinie. Im Bereich der Nahtlinie erscheinen Mikrotubuli sowie elektronenoptische Verdichtungen in den benachbarten Zellmembranen der Klappenzellen. Ähnliche Strukturen sind von Lóm (1969) bei *Sphaeromyxa* und Desser und Paterson (1978) bei *Myxobolus* sp. beschrieben und als "Cristae" bezeichnet worden. Die Klappenzellen der reifenden Sporen von *M. cotti* unterscheiden sich von allen bisher elektronenmikroskopisch untersuchten Myxosporea durch das Vorhandensein von diskontinuierlichen Ablagerungen aus einer stark elektronendichten Substanz.

Im Laufe der weiteren Entwicklung schrumpfen die Organellen. In den Klappenzellen von reifen Sporen bleibt als Relikt eine doppelwandige Schale mit einer dazwischen liegenden dichten homogenen Substanz.

Am vorderen Ende (Apex) der Spore unterscheiden sich die beiden Klappen von *M. cotti* von denen der anderen Myxobolidae-Spezies dadurch, daß die zwei benachbarten Klappenwände im Bereich der Nahtlinie eine dreieckige Verdickung bilden. Diese Verdickung nimmt durch die die Spore umgebende Furche die Form der Zahl Zwei an. An der Basis dieser Verdickung befinden sich an beiden Seiten der Nahtlinie die zwei Öffnungen für die Ausstülpung der Polfilamenten.

2.3.1b. Entwicklung der Polkapselzellen

Der Entwicklungsverlauf der Polkapselzellen bis zur Bildung der Polkapseln ist bei allen bisher beschriebenen Spezies der Klasse Myxosporea grundsätzlich identisch. Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Arten liegen in deren Ultrastruktur, Größe und im Aufbau der Polfilament und deren Anordnung innerhalb der Polkapsel.

Die Entwicklung der Polkapseln vom *M. cotti* stimmt mit dem von Lôm und Puytorac (1965) angegebenen Schema bis auf einige Besonderheiten dieser Spezies überein. In den frühen Sporoblasten von *M. cotti* lassen sich die zwei Polkapselzellen durch ihre nucleolushaltigen Kerne deutlich gegenüber den anderen Zellen abgrenzen. Das früheste Stadium der Polkapsel, welches bereits in einem frühen Pansporoblast beobachtet werden konnte, liegt in der Nachbarschaft zu dem nucleolushaltigen Kern. Dieses frühe Stadium ist ein kugelförmiges Gebilde mit feinen Granula, umgeben von einer kontrastreichen Membran. Die Polkapselzellen in diesem Stadium enthalten gut entwickeltes endoplasmatisches Retikulum und vereinzelte Golgi-Apparate.

Über den Ursprung der Polkapsel gibt es verschiedene Meinungen. Während Lôm (1969) vermutet, daß diese bei *Spaeromyxa* sp. aus dem glatten endoplasmatischen Retikulum oder den Golgi-Apparaten entsteht, nehmen Schubert (1968) bei *Henneguya pinna* und Desser und Paterson (1978) bei *Myxobolus* sp. an, daß der Ursprung der Polkapsel im rauen endoplasmatischen Retikulum liegt. Entgegen diesen Meinungen ergeben die elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Polkapselzellen in den frühen Pansporoblasten von *M. cotti* keine auffallenden Anhaltspunkte zwischen dem rauen und dem glatten endoplasmatischen Retikulum und dem Golgi-Apparat bezüglich der Ausbildung. Somit ist bei dieser Spezies eine Aussage über den Ursprung der Polkapsel nicht möglich.

Das nächste besonders gut erkennbare Stadium der Polkapselentwicklung bei *M. cotti* ist keulenförmig und erscheint in den Polkapselzellen von Sporoblasten mit bereits differenzierten Sporenanteilen. Dieses keulenförmige (sog. Polkapsel-Primordium) erscheint später mit einer Einschnürung an einem Ende und ist von zahlreichen ovalen Mitochondrien vom tubulären Typ umgeben. In der Folge nimmt die Keulenbasis eine rundliche Gestalt an, die Spitze hingegen wächst in Form eines Schlauches (sog. *Tubulus externus*) aus, der in Windungen um das Primordium verläuft. Danach erscheint eine dunkel granulierte Substanz innerhalb des Schlauches. Gleichzeitig werden diese

Granula an verschiedenen Stellen im Primordium beobachtet. In den Schläuchen bilden diese Granula die fibrilläre Grundsubstanz des Polfilamentes, welches spiralisiert wird und sich mit der inneren Membran des Polkapsel-Primordiums verbindet.

Gleichzeitig wandelt sich das rundliche Polkapsel-Primordium in eine birnenförmige Polkapsel um. Die das Polfilament umgebende innere Polkapselmembran vollzieht danach vermutlich eine Umstrukturierung mit den vorhandenen dunklen Granula innerhalb des Polkapsel-Primordiums.

Das Ergebnis ist die Bildung eines in 8 Windungen aufgerollten Polfilamentes, welches von der inneren hellen Polkapselmembran umhüllt und dadurch am vorderen Ende der Polkapsel befestigt wird. Nach Lóm & Puytorac (1965) befindet sich am Ende des Tubulus externus in den frühen Sporoblastenstadien ein Verschluß in Form einer elektronendichten Schicht, welche später in der Schale der reifen Sporen die Öffnung für die Ausstülpung der Polfilamente schließt. Der Raum zwischen dem Verschluß und der Polkapsel ist von einer Ausstülpung des Zytoplasmas der Polkapsel ausgefüllt. Diese Entwicklungen sind auch von Schubert (1968) und Desser und Paterson (1978) beschrieben.

Die Untersuchungen der Polkapselentwicklung von *M. cotti* zeigen, daß das Vorderende der Polkapsel in den reifen Sporen von einer kegelförmigen kappenähnlichen fibrillären Struktur verschlossen ist. Die äußere Polkapselmembran setzt sich in diesem Verschluß fort, während die helle innere Membran das Polfilament umhüllt. Zwischen dem Verschluß und dem Anfang des Polfilamentes befindet sich ein elektronenoptisch feingranulierter hellerer Abschnitt. Das Vorkommen dieses kegelförmigen kappenähnlichen Verschlusses und seiner Struktur in der Polkapsel ist bisher in keiner von den elektronenmikroskopisch untersuchten Myxosporea beschrieben. Sie ist daher als Merkmal für *M. cotti* zu betrachten. Die Zellmembran der Polkapselzelle folgt in den reifen Sporen der Form der Polkapsel und endet mit einem elektronendichten Abschnitt in der Ausstülpungsöffnung des Polfilamentes in der Schale.

Dieser Abschnitt ist identisch mit dem von Lóm & Puytorac (1965), Schubert (1968) und Desser und Paterson (1978) als Verschluß der Ausstülpungsöffnung des Polfilaments beschriebenen. Der von den Autoren darunterliegende beschriebene Raum mit dem Zytoplasmaausläufer der Polkapselzelle ist auch bei *M. cotti* sehr gut erkennbar.

Lóm (1964) und Lóm & Puytorac (1965) vermuten, daß der Verschluß der Ausstülpungsöffnung in der Schale bei *Myxobolus* sp. und *Henneguya psorospermica* eine wichtige Rolle bei der Ausschleusung der Polfilamente spielen kann. Die bei *Myxobolus cotti* beobachtete dreieckige kappenähnlich Struktur an der vorderen Spitze der Polkapsel und der fein strukturierte Abschnitt zwischen ihr und den Polfilamenten dürfte ebenfalls eine wichtige, wenn nicht sogar die Hauptrolle bei der Ausschleuderung der Polfilamente spielen. Im Zytoplasma der reifenden Polkapselzellen von *M. cotti* kommen häufig kleine Glykogenansammlungen vor, die unregelmäßig verteilt liegen. Nach Desser und Paterson (1978) kommen in reifenden Polkapselzellen von *Myxobolus* sp. Glykogenpartikel in Form großer zusammengelagerter Klumpen vor. Bei *Fabespora* werden die Glykogenpartikel in den Polkapselzellen in Form kleiner Aggregate angetroffen (Weidner et al., 1979). Nach Lóm et al. (1982) scheint das Vorkommen von Glykogen in den Polkapselzellen eine häufig vorkommende Eigenschaft der *Myxosporea* zu sein.

Die Reifung der beiden Polkapselzellen bei *M. cotti* geschieht oftmals nicht gleichzeitig. Dieses Phänomen ist auch von Desser und Paterson (1978) bei *Myxobolus* sp. vermerkt.

In den reifenden Sporen von *M. cotti* liegen die Kerne der Polkapselzellen seitlich des Polkapsel-Primordiums. Bei den reifen Sporen hingegen befinden sie sich im Zytoplasmarest der Polkapselzellen unterhalb der ausgebildeten Polkapseln. Dies wird auch von Lóm & Puytorac (1965) bei *Henneguya psorospermia* angedeutet.

2.3.1c. Entwicklung des Amöboidkeimes

In den frühen Sporoblasten von *M. cotti* fällt der Amöboidkeim erst auf, wenn das keulenförmige Polkapsel-Primordium der Polkapselzelle erscheint. Er ist durch elektronendichte kugelförmige Einschlüsse eindeutig zu erkennen. Diese Einschlüsse nehmen bei fortschreitender Entwicklung an Zahl zu und sind unregelmäßig im gesamten Amöboidkeim verteilt. Ihr Inhalt stellt sich im Zentrum elektronenoptisch sehr dicht dar, sie weisen aber in vielen Fällen an einer Seite einen elektronenlichten Bereich auf. Mitchell et al. (1985) beschrieben zwei Formen dieser Einschlüsse im Amöboidkeim von *M. hendricksoni*. Die ersten sind kleine ring- oder tubulusähnliche Einschlüsse (160 - 500 nm) und kommen in den elektronenoptisch hellen und dunklen Bereichen der Amöboidkeime vor. Die zweiten sind große Säckchen, welche von einer Membran umschlossen sind und oft als Aggregate um den Amöboidkeimkern und an dem inneren Rand der Amöboidkeimmembran vorliegen.

Die dunklen kugeligen Einschlüsse im Amöboidkeim von *M. cotti* ähneln denen von Löm (1969) bei *Sphaeromyxa*, Schubert (1968) bei *Hennguya pinnae* und Desser & Paterson (1978) bei *Myxobolus* sp..

Nach Desser & Paterson (1978) und Mitchell et al. (1985) lassen sich die Einschlüsse im Amöboidkeim von *M. sp.* und *M. hendricksoni* mit der Thiery Methode nicht darstellen und können deshalb keine Polysaccharide beinhalten. Bei den Einschlüssen im Amöboidkeim von *M. hendricksoni* vermuten Mitchell et al. (1985), daß es sich eher um Sekrete als um Reservekörper handelt. Der Amöboidkeim von *M. cotti* ist analog den Befunden bei anderen Myxobolidae (Schubert, 1968), Desser & Paterson (1978), Current et al. (1979) und Mitchell & Seymour (1985)) zweikernig. Die zwei Kerne liegen in dem ribosomenreichen Zytoplasma eng nebeneinander und manchmal ist einer der beiden halbmondförmig um den anderen angeordnet.

Auffallend bei *M. cotti* ist das häufige Vorkommen von Pinocytosekanälen an der Amöboidkeimmembran. Diese Kanäle sind durch Invagination der Amöboidkeimmembran nach innen entstanden und weisen bis zu 4 Abschnürungen von Pinocytose-Bläschen auf. Die abgetrennten Bläschen sind im gesamten Amöboidkeim zu verfolgen. Sie sind kugelförmig und haben ein von einem hellen Saum umgebenes Zentrum. Die Entwicklung der abgetrennten kugelförmigen Pinozytose-Bläschen und ihre Zahl (ca. dreimal soviel wie die dunklen Einschlüsse) lassen vermuten, daß die dunklen Einschlüsse von ihnen abstammen. Cytochemische Untersuchungen sind erforderlich, um die Aufgabe und die Natur dieser Einschlüsse zu klären.

Über das Vorhandensein von Pinozytose-Bläschen an der Amöboidkeimmembran, wie sie bei *M. cotti* festgestellt wurden, wurde bisher an keiner Stelle der vorliegenden Literatur berichtet.

B. Aufklärung des Infektionsweges von *Myxobolus cerebralis*
Hofer, 1903 und *Myxobolus cotti* El-Matbouli und Hoffmann, 1987

Alle bisherigen Infektionsversuche innerhalb der Klasse Myxosporea sind nur mit *M. cerebralis*, dem Erreger der Drehkrankheit der Salmoniden, durchgeführt worden. Bei genauerem Studium der Literaturhinweise fällt auf, daß es über den Infektionsmodus von *M. cerebralis* immer noch Unklarheiten und Widersprüche gibt.

1. Der Invasionsweg von *M. cerebralis*

Markiw & Wolf (1983) und Wolf & Markiw (1984) publizierten ihre revolutionäre Hypothese über die Übertragung von *M. cerebralis* auf Regenbogenforellen. Die Autoren stellten fest, daß die Sporen von *M. cerebralis* selbst nicht infektiös für Salmoniden sind, sondern daß sich die Sporen in Oligochaeten des Genus *Tubifex* als Zwischenwirt zu Actinosporea des Genus *Triactinomyxon* entwickeln, welche allein die Salmoniden infizieren können. Bisher wurde diese Hypothese von vielen Protozoologen mit Skepsis betrachtet. In der vorliegenden Arbeit wurden zum ersten Mal die Transmissionsversuche von Wolf & Markiw (1984) mit Erfolg nachvollzogen. Damit können die Ergebnisse von Wolf & Markiw (1984) für *M. cerebralis* bestätigt und auch bei *M. cotti* nachgewiesen werden. Versuch 1 schließt eine direkte Infektion der Regenbogenforellen mit *M. cerebralis* aus.

Der Verlauf der Entwicklung von *M. cerebralis*-Sporen zu Actinosporea des Genus *Triactinomyxon* im Darmepithel der *Tubifex* konnte erstmals in Versuch 2 beobachtet werden. Wie aus den Ergebnissen von Versuch 2, 2a und 2b zu entnehmen ist, vollzieht sich der Lebenszyklus von *M. cerebralis* wie folgt:

Die Sporen von *M. cerebralis* werden zusammen mit dem Schlamm durch Zufall von Oligochaeten des Genus *Tubifex* aufgenommen. Im Darmkanal der *Tubifex* schleudern die Sporen ihre Polkapseln aus und heften sich mit Hilfe der ausgestülpten Polfilamente in der Darmwandung fest. Danach öffnen sich die Schalen, und

es schlüpft der Amöboidkeim und dringt ins Epithel des Darmkanals. Der Amöboidkeim vermehrt sich vegetativ in infizierten Epithelzellen. Während dieser Zeit wandern durch Zellteilung entstandene Tochterzellen in die benachbarten Epithelzellen ein. Am Ende dieses Vermehrungs- und Wanderungsprozesses erweist sich jede Epithelzelle von 4 bis 5 benachbarten Segmenten als infiziert. In den infizierten Epithelzellen bilden sich durch Kernteilungen Pansporocysten mit 8 Zygoten. Jede dieser Zygoten teilt sich mehrmals weiter und bildet eine Triactinomyxon-Spore. Nach diesem Entwicklungsstadium liegt als Endprodukt in jeder Epithelzelle ein Pansporocyst mit acht zusammengefalteten Triactinomyxon-Sporen. Kurze Zeit danach werden die Sporen durch Platzen der Pansporocystenwand und der Epithelzellmembran ins Darmlumen entlassen. Die Sporen gelangen ins Wasser entweder nach dem Tod der Tubifex oder sie werden durch den Darmkanal ausgeschieden. Sobald die Triactinomyxon-Sporen den Wirt verlassen, werden sie osmotisch entfaltet und nehmen eine ankerförmige Gestalt an. Dies verleiht den Sporen eine erhöhte Schwimmfähigkeit, die es ihnen ermöglicht, sich über größere Strecken im Wasser zu verbreiten. Die Infektion der Forellen kann auf zwei Wegen erfolgen:

- a) Durch den Wasserweg, wobei die Fische Triactinomyxon-Sporen per os aufnehmen können. Auch ein Anheften an der Haut und an den Kiemen und das Eindringen des Amöboidkeimes auf diesem Wege steht zur Diskussion.
- b) Durch orale Aufnahme infizierter Tubifex.

Hier gelangen die Triactinomyxon-Sporen in den Verdauungstrakt der Forellenbrut. Mit großer Wahrscheinlichkeit schießen die Sporen ihre Polkapseln unter dem Einfluß der Verdauungsfermente ab und heften sich mit Hilfe der ausgestülpten Pofilamente in der Darmwandung fest. Danach können aus den Sporen die Amöboidkeime schlüpfen, die vermutlich in das Lymph- und Blutgefäßsystem eindringen und über dieses in den Kopf- und Wirbelsäulenbereich gelangen. Sie treten dort in den Knorpel ein, besonders in die Bogengänge des utrikulären Organs, wachsen

dort heran und bilden durch bisher unbekannte Vermehrungsstadien die Sporen von *M. cerebralis*. Auf Grund der Zerstörung im Bereich des utrikulären Apparates und Störungen der Bewegungskoordination kommt es zu den typischen Drehbewegungen der erkrankten Fische. Eine damit verbundene Schwarzfärbung des kaudalen Bereiches, etwa vom After an, entsteht vermutlich durch Beeinträchtigung des Sympatikus-Nervs und der in ihm enthaltenen pigmentmotorischen Nervenfasern (Halliday, 1976).

Drehkranke Forellen stellen eine leichte Beute für Räuber (z.B. Raubfische und Wasservögel) dar. Nach eigenen Beobachtungen an Hechten (*Esox lucius* L.) und Stockenten (*Anas platyrhynchos*) (unveröffentlicht) scheiden diese die mit der infizierten Beute aufgenommenen Sporen mit dem Kot wieder aus, wobei die Sporen ihre Infektionsfähigkeit behalten. Damit ist eine Verbreitung des Parasiten auch durch Räuber sichergestellt. Andererseits gelangen Sporen erst nach dem Tod infizierter Forellen und deren Verwesung ins Wasser beziehungsweise in den Schlamm. Über die freigesetzten Sporen im Schlamm erfolgt durch Zufall die Infektion neuer *Oligochaeten* des Genus *Tubifex*.

Eine schematische Darstellung des Lebenszyklus von *M. cerebralis* (Abb. 55) umfaßt die Ergebnisse von den Versuchen 2, 2a, 2b. Sowohl die Morphologie als auch die Größe der *Triactinomyxon*-Sporen stimmen mit denen von Wolf & Markiw (1984) überein. Die Autoren haben die *Triactinomyxon*-Sporen nach der angegebenen Methode von Mackinnon & Adam (1924) und Janizewska (1955 und 1957) gemessen, indem sie die Länge des vorderen Teiles der Hölzung (Epispore), welche den Amöboidkern enthält, vermessen haben (36 μm). Die zweite Maßangabe umfaßte den Arm (Stiel) unterhalb der Epispore (90 μm). Da der Amöboidkeim mit den Sporozoiten in den frischen Sporen ständig in Bewegung ist, so daß er sich öfter im gesamten Arm unterhalb der drei Polkapseln bis zum Verzweigungspunkt ausdehnt, wurde in eigenen Untersuchungen die Länge des gesamten Bereiches unterhalb der drei Polkapseln bis zum Verzweigungspunkt vermessen (135,62 μm $\pm$ 10,07 μm). Deshalb sollte der gesamte Arm

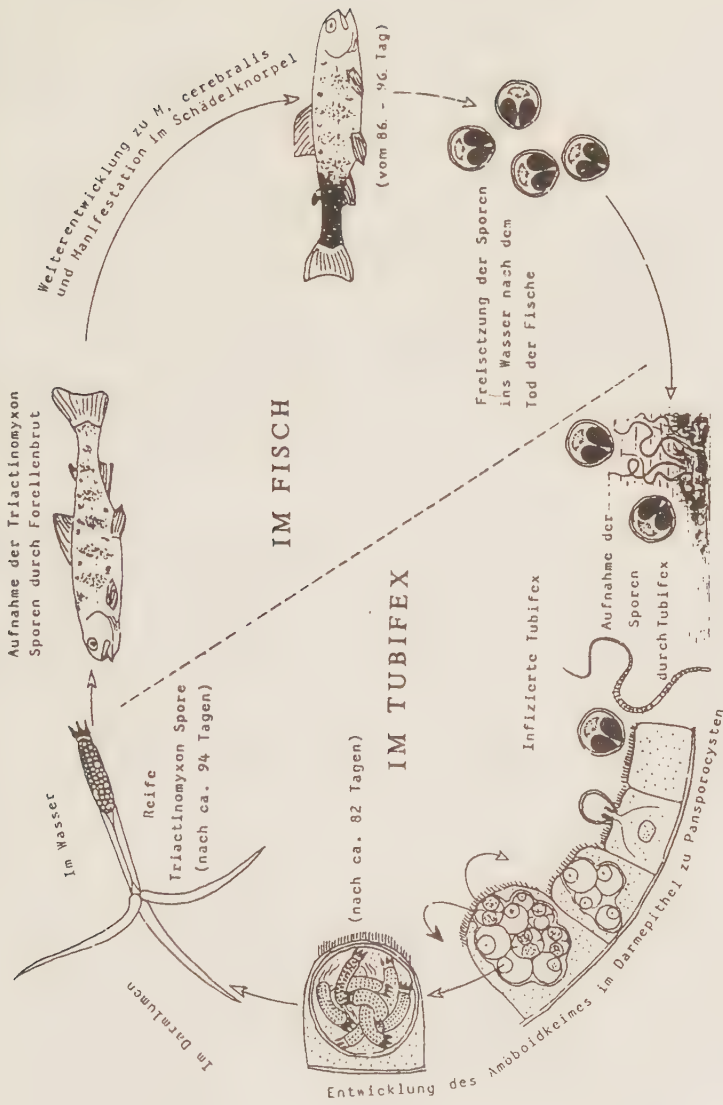


Abb. 55 Entwicklungszyklus von *Myxobolus cerebralis*
(schematische Darstellung)

mit Epispore gemessen werden. Wolf & Markiw (1984) schlagen den Namen *Triactinomyxon gyrosalmo* anstatt *M. cerebralis* für den Erreger der Drehkrankheit der Salmoniden vor. Da der Name *M. cerebralis* aber seit 86 Jahren zur Identifizierung der Drehkrankheit verwendet wird, ist es angebracht, den Namen *Triactinomyxon gyrosalmo* nur zur Identifizierung und Benennung des Infektionsstadiums von *M. cerebralis* zu verwenden.

Nach Wolf & Markiw (1984) und Markiw (1986) beträgt die Zeit von Zugabe der Sporen von *M. cerebralis* zum *Tubifex* bei einer Wassertemperatur von 12,5°C bis zum ersten Erscheinen von *Triactinomyxon gyrosalmo* 104 bis 113 Tage. Da in den vorliegenden Versuchen bei einer Wassertemperatur von 16 - 17°C bereits nach 82 Tagen *T. gyrosalmo* festgestellt wurde, kann man daraus schließen, daß je höher die Wassertemperatur ist, desto schneller entwickeln sich *M. cerebralis*-Sporen im Darmepithel der *Tubifex* zu *T. gyrosalmo*.

Mackinson & Adam (1924); Janiszewska (1955 und 1957) und Marques & Ormiers (1982) untersuchten nur spontan infizierte *Tubifex* aus verschiedenen Gewässern, deshalb wurden in ihren Arbeiten auch keine Angaben über die erforderliche Zeit zur Entwicklung der verschiedenen *Actinosporea*-Spezies gemacht. Die Autoren sind in ihren Arbeiten davon ausgegangen, daß die *Actinosporea* eigenständige Parasiten der *Oligochaeten* sind. Bisher sind jedoch alle Versuche, *Oligochaeten* mit *Actinosporea* direkt zu infizieren, mißlungen (Caullery & Mesnil, 1905; Janiszewska, 1955; und Wolf & Markiw, 1984).

Mit einer Arbeit über die Verbreitung von *Actinosporea* widersprechen Hamilton & Canning (1987) der Hypothese von Wolf und Markiw (1984). Hamilton & Canning (1987) meinen, daß *Triactinomyxon gyrosalmo* und *Triactinomyxon dubium* Granata, 1924, identisch sind. Außerdem sollen nach ihren Untersuchungen keine signifikanten Änderungen im Vorkommen von *T. dubium* (*T. gyrosalmo*) in spontan infizierten *Tubifex* aus verschiedenen Gewässern nach Zugabe von *M. cerebralis*-Sporen stattgefunden haben. Daher

meinen die Autoren, daß zwar *M. cerebralis*-Sporen von *Tubifex* aufgenommen werden können, eine weitere Entwicklung im Darmepithel der *Tubifex* aber ausgeschlossen werden kann. Sie vermuten, daß die *M. cerebralis*-Sporen durch den Darmkanal der *Tubifex* wieder unverändert ausgeschieden werden. Dagegen kann in den eigenen vorliegenden Infektionsversuchen erstmalig die Entwicklung von *M. cerebralis* zu *Triactinomyxon gyrosalmo* Wolf & Markiw (1984) im Darmepithel der *Tubifex* eindeutig verfolgt werden. Ein weiterer Grund, warum Hamilton & Canning die Hypothese von Wolf & Markiw (1984) als nicht eindeutig ansehen, ist die Tatsache, daß Wolf & Markiw nicht erwähnt haben, ob noch andere Spezies außer *Triactinomyxon gyrosalmo* vorgelegen haben. In der vorliegenden Arbeit konnten im Versuch 2 außer *Triactinomyxon gyrosalmo* zu keinem Zeitpunkt andere *Actinosporea* spp. festgestellt werden. Außerdem wurde in Kontroll*tubifex* vom Versuch 2 nie *Actinosporea* beobachtet.

Da Hamilton & Canning (1987) offensichtlich keine *Actinosporea*-freie *Tubifex* verwendet haben, ist somit ihre Schlußfolgerung nicht nachvollziehbar. Im Gegensatz zu Hamilton & Canning (1987) ist in der vorliegenden Arbeit eine sichere Korrelation zwischen *M. cerebralis* und *Triactinomyxon gyrosalmo* dargestellt worden.

Uspenskaya (1978) und Prihoda (1983) berichten über einen gelungenen Versuch, in dem sie Regenbogenforellen direkt mit Sporen von *M. cerebralis*, welche im Schlamm ca. 4 Monate lang gereift waren, infiziert haben. In beiden Arbeiten wurden keine Angaben über die Zusammensetzung des verwendeten Schlammes und seiner Fauna gemacht. Uspenskaya teilte mit (mündliche Mitteilung beim 2nd International Symposium of Ichthyoparasitology, 1987 in Tihany), daß sie nicht ausschließen kann, daß sich im Schlamm des Infektionsversuchs mit *M. cerebralis*, den sie 1978 durchgeführt hatte, *Oligochaeten* befanden. Diesem Gesichtspunkt wurde seinerzeit bei der Versuchsdurchführung keine Aufmerksamkeit geschenkt.

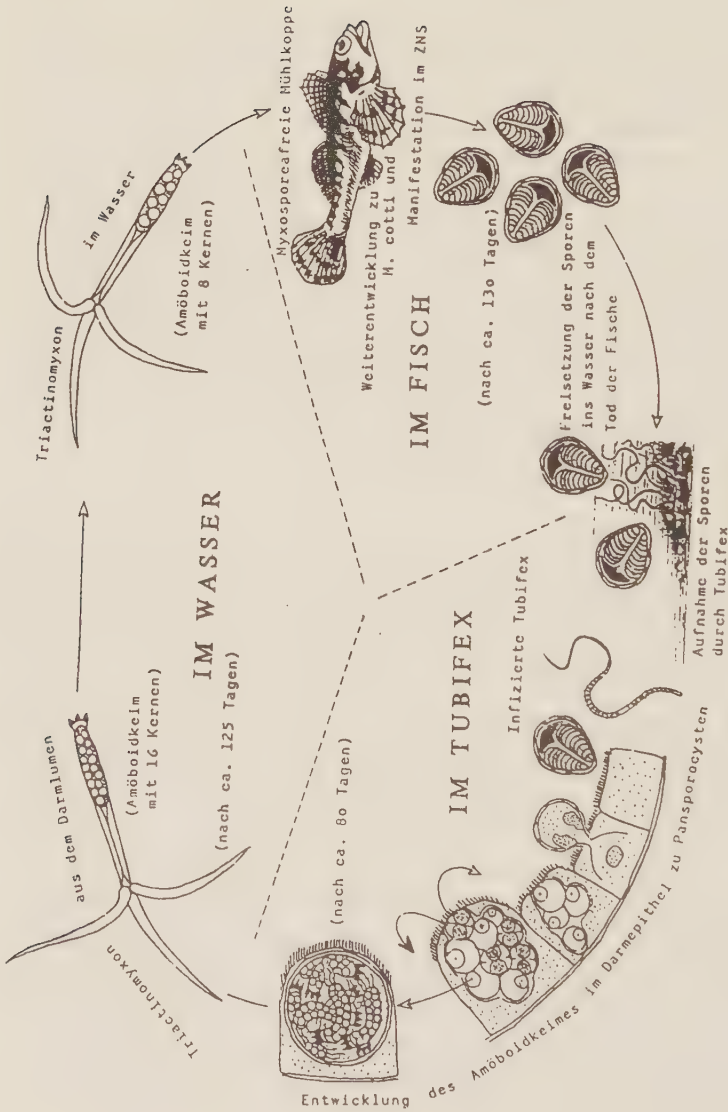


Abb. 56 Entwicklungszyklus von *Myxobolus cotti*
(schematische Darstellung)

2. Der Invasionsweg von *Myxobolus cotti*

Das wohl mit interessanteste Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist die Feststellung, daß noch eine andere Spezies des Genus *Myxobolus* (*M. cotti*) auf dieselbe Art und Weise wie *M. cerebralis* übertragen werden kann. Wie aus den Ergebnissen von Versuch 4 und 4a zu entnehmen ist, nimmt der Lebenszyklus von *M. cotti* in seinem generellen Ablauf bis auf die Morphologie und die Größe des Infektionsstadiums "Triactinomyxon" den für *M. cerebralis* beschriebenen Weg. Eine schematische Darstellung des Lebenszyklus von *M. cotti* (Abb. 56) faßt die Ergebnisse von Versuch 4 und 4a zusammen.

Bei einer Wassertemperatur von 16 bis 17°C entwickeln sich die Sporen von *M. cotti* im Darmepithel der Tubifex in ca. 80 Tagen zu Actinosporea des Genus Triactinomyxon. Im Unterschied zu Triactinomyxon gyrosalmo, Wolf & Markiw, 1984, haben die Triactinomyxon-Sporen hier eine Epispore mit 16 Sporozoiten, welche unmittelbar, nachdem die Triactinomyxon-Sporen aus dem Pansporocyst ausbrechen, je zwei Sporozoiten miteinander verschmelzen, so daß die Epispore dann einen Amöboidkeim mit 8 kugelförmigen Sporozoiten enthält. Eine ähnliche Beobachtung, bei der die Sporozoiten paarweise miteinander verschmelzen, ist von Mackinnon & Adam (1924) und Janiszewska (1955), bei Triactinomyxon legeri Mackinnon & Adam (1904) beschrieben: Die Sporen haben 24 Sporozoiten, welche nach dem Ausbrechen aus dem Pansporocyst paarweise miteinander verschmelzen und dann 12 Sporozoiten bilden.

Während Löm (1985, pers. Mitteilung) noch 28 Spezies von Actinosporea benennt, können nach Marques (1984) 30 Spezies unterschieden werden. Davon sind 7 Spezies dem Genus Triactinomyxon zugeordnet. Betrachtet man die hier beschriebenen Triactinomyxon sp. und die in der Literatur als eigenständige Parasiten der Oligochaeten angegebenen 7 Spezies des Genus Triactinomyxon, so bleiben nur 2 Spezies, die mit dem hier beschriebenen Tri-

actinomyxon vergleichbar sind. Das sind: *Triactinomyxon ignotum* Stolc, 1899 im Darmepithel von *Tubifex tubifex* und *Triactinomyxon magnum* Granata, 1923 im Darmepithel von *Limnodrilus udekemianus*. Nach der Beschreibung und Handzeichnung von Mackinnon & Adam (1924) und Janiszewska (1955) haben die Sporen von *Triactinomyxon ignotum* eine Größe von 110 - 165 μm und einen Amöboidkeim mit 8 eiförmigen Sporozoiten. Die Sporen von *Triactinomyxon magnum* weisen eine Größe von 500 μm und einen Amöboidkeim mit 16 Sporozoiten auf.

Im Unterschied dazu haben die in der vorliegenden Arbeit als Infektionsstadium von *M. cotti* beschriebenen *Triactinomyxon* sp. eine Größe von $88,64 \mu\text{m} \pm 4,76 \mu\text{m}$ und außerdem einen Amöboidkeim mit 16 Sporozoiten, welche unmittelbar nach dem Freisetzen ins Wasser zu 8 kugelförmigen Sporozoiten verschmelzen. Hier findet also offensichtlich ein sexueller Vermehrungsschritt statt.

Aus den bisher geschilderten Befunden ist ersichtlich, daß sich die hier beschriebene *Triactinomyxon* sp. sowohl durch ihre Größe als auch durch die Zahl der Sporozoiten im Amöboidkeim von allen bisher in der Literatur beschriebenen *Triactinomyxon*-Spezies unterscheidet. Es wird daher vorgeschlagen, diese Spezies als *Triactinomyxon myxoboli cotti* zu führen und damit das eigentliche Infektionsstadium von *M. cotti* darzustellen.

Durch den Wasserweg werden die Sporen von *Triactinomyxon myxoboli cotti* von den Mühlkopfen vermutlich entweder per os aufgenommen, oder sie heften sich an den Kiemen an. Daran anschließend dringt der Amöboidkeim durch das Epithel der Kiemenlamellen direkt in die Blutbahn ein. Der Amöboidkeim gelangt in beiden Fällen mit großer Wahrscheinlichkeit in das Blutgefäßsystem und über dieses ins Zentralnervensystem der Mühlkoppe. Vom Amöboidkeim werden im Zentralnervensystem der Mühlkoppe durch bisher unbekannte Vermehrungsprozesse Trophozoiten und Sporen von *M. cotti* gebildet.

Wie aus den Ergebnissen von Versuch 4b zu ersehen ist, kann *Triactinomyxon myxoboli cotti* Regenbogenforellenbrut nicht infizieren. Daraus ist zu schließen, daß *Triactinomyxon myxoboli cotti* wirtsspezifisch ist.

Zusammenfassend läßt sich aufgrund der hier vorgestellten Befunde sagen, daß *M. cerebralis* und *M. cotti* nur über einen Zwischenwirt (Tubifiziden) auf ihre Endwirte Regenbogenforelle beziehungsweise Mühlkoppfen übertragen werden können. Bei *M. cerebralis* entwickeln sich die Sporen im Darmepithel der Tubifex zu *Triactinomyxon gyrosalmo*, welche die Regenbogenforellen infizieren und dadurch die Drehkrankheit verursachen. Bei *M. cotti* entwickeln sich die Sporen im Darmepithel der Tubifex zu *Triactinomyxon myxoboli cotti*, welche die Mühlkoppfen befallen.

Damit beweist die vorliegende Arbeit, daß die zwei Formen, Actinosporea und Myxosporea, die bisher in der Literatur und auch erst vor kurzem von Levine et al. (1980) in einer Veröffentlichung des Committee on systematics and evolution of the society of protozoologists unter dem Stamm Myxozoa in die Klasse Actinosporea und die Klasse Myxosporea eingeordnet wurden, nur alternative Lebensstadien eines einzigen Organismus darstellen. Bei den Actinosporea handelt es sich um ein Entwicklungsstadium, und zwar um das Infektionsstadium der Myxosporea für Vertebraten. Dies ist für *M. cerebralis* und *M. cotti* in dieser Arbeit eindeutig bewiesen. Damit ist wahrscheinlich, daß auch andere Spezies der Klasse Myxosporea den gleichen Entwicklungsweg nehmen. Aus diesem Grunde sollte die Taxonomie des Stammes Myxozoa neu überdacht werden. Außerdem könnte in der Zukunft zur Bestimmung der Myxosporea das Infektionsstadium miteinbezogen werden. Dies würde die Problematik der Bestimmung einzelner Spezies einer Familie erheblich erleichtern.

Betrachtet man die neuen Kenntnisse über den Lebenszyklus der Myxosporea aus dieser Arbeit unter phylogenetischen Aspekten, so sind folgende Überlegungen möglich:

Die in dieser Arbeit festgestellte Bindung der Klasse Myxosporea an Oligochaeten kann ein Indiz dafür sein, daß das Parasit-Wirt-Verhältnis Myxosporea-Oligochaet älter ist als das Verhältnis Myxosporea-Fisch. Es könnte somit diskutiert werden, daß Vorfahren der Myxosporea schon im Permzeitalter in Oligochaeten parasitierten. Fische, die bereits im Silur bis zu den Lungenfischen entwickelt waren, wären nach dieser Vorstellung sodann als zusätzlicher parasitärer Lebensraum erobert worden, indem die vegetative Vermehrung oder vielleicht auch die Sexualphase der Myxosporea-Vorfahren in sie verlagert wurden. Ihre weitere phylogenetische Entwicklung könnten diese Parasiten dann sehr wohl gemeinsam und parallel mit ihrem Endwirt vollzogen haben, wobei sie die Oligochaeten als bewährte Zwischenwirte beibehielten. Ähnliche phylogenetische Vorstellungen gibt es beispielsweise für Trematoden (Dönges, 1988), bei denen Mollusken als Primärwirte fungieren und Vertebraten erst später hinzukamen. Im Gegensatz zu Myxosporea konnten die Trematoden sich auch terrestrischen Vertebraten bis hin zu Mammalia als Endwirte erschließen. Daß Myxosporea weitgehend auf Fische und ans Wasser gebundene Amphibien und Reptilien (Löm und Noble 1984) beschränkt blieben, kann ein Hinweis sein, daß sie auf Ordnungen der Oligochaeten, wenn nicht überhaupt auf die Ordnung der Tubifiziden beschränkt sind. Auf der anderen Seite wurden Actinosporea auch bei Sipunculiden gefunden (Janizewska, 1955). Somit eröffnen sich hierbei Fragen, die derzeit nicht beantwortet werden können. Wann ein Generationswechsel in der Stammesgeschichte der Myxosporea erstmalig eingetreten ist, blieb unbekannt. Offensichtlich ist er aber uralte, denn es gibt kaum ein anderes Endoparasit-Wirt-System, bei dem der Wirt eine ähnliche hohe parasitäre Belastung erträgt, ohne zugrunde zu gehen, der Parasit also i.d.R. keine pathogenetische Bedeutung hat. Dies stellt auch einen Kontrast zu den Trematoden dar, die zwar i.d.R. für Mollusken nicht, wohl aber für Vertebraten - je höher in der Phylogenie, desto stärker - pathogen sind.

VI. Zusammenfassung

A. Myxosporea bei der Mühlkoppe (*Cottus gobio*)

Bei der Untersuchung von 169 Mühlkoppen aus zwei Regionen (Königssee/Obersee und Bayerischer Wald) wurde bei 90 (53 %) eine Infektion des Zentralnervensystems mit *Myxobolus cotti* El-Matbouli und Hoffmann, 1987, festgestellt. Die Morphologie von *M. cotti* wurde licht-, transmissions- und rasterelektronenmikroskopisch untersucht und diskutiert.

1. Frische reife Sporen von *M. cotti* sind in der Regel eiförmig und am vorderen Ende zugespitzt. Selten weisen die Sporen eine mehr rundliche Form auf. Sie sind von einer $0,8\ \mu\text{m}$ dünnen Schleimhülle umgeben. Die Polkapseln sind birnenförmig und annähernd gleich groß. Nativ vermessene reife Sporen haben eine Länge von $12,40\ \mu\text{m} \pm 1,38\ \mu\text{m}$ und eine Breite von $9,62\ \mu\text{m} \pm 0,87\ \mu\text{m}$. Die Polfilamente sind $57,14\ \mu\text{m} \pm 2,40\ \mu\text{m}$ lang.
2. Da *M. cotti* nur im ZNS vorkommt und in keinem anderen Organ nachgewiesen wurde, wird diese Spezies als neurotrop betrachtet.
3. Die taxonomische Stellung von *M. cotti* wird im Vergleich mit 11 anderen *Myxobolus* spp. aus dem ZNS verschiedener Teleostee diskutiert.
4. Große mehrsporige Trophozoiten von *M. cotti* liegen zwischen den Nervenfasern im Rückenmark und im Gehirn. Im Rückenmark kommen sie sowohl in der weißen als auch in der grauen Substanz vor. Im Gehirn kommen sie im Telencephalon, Mesencephalon, Cerebellum und in der Medulla oblongata vor.

5. Die mehrsporigen Trophozoiten liegen meistens ohne Gewebsreaktion zwischen auseinandergedrängten Nervenfasern. Nur selten ist eine lockere Infiltration mit Gliazellen um Sporenaggregate zu beobachten.
6. Transmissionselektronenmikroskopisch werden neben reifen Sporen auch Entwicklungsstadien (Pansporoblasten, Sporoblasten) beobachtet.
7. Die Entwicklung der Klappenzellen, der Polkapselzellen und des Amöboidkeimes wurden anhand elektronenmikroskopischer Aufnahmen dargestellt.

B. Aufklärung des Invasionsweges von *Myxobolus cerebralis* Hofer, 1903, und *Myxobolus cotti* El-Matbouli und Hoffmann, 1987

In Übertragungsversuchen konnte gezeigt werden:

- a. Frische Sporen von *M. cotti* und *M. cerebralis* sowie Sporen, welche 5 Monate im Schlamm reiften, können Mühlkoppen beziehungsweise Regenbogenforellen nicht direkt infizieren.
- b. Sporen von *M. cotti* und *M. cerebralis* (ob frisch oder nach 5 Monaten im Schlamm) werden mit dem Schlamm von *Tubifex tubifex* aufgenommen. Im Darmepithel entwickeln sich die Sporen von *M. cotti* nach ca. 80 Tagen zu *Triactinomyxon myxoboli cotti*, während sich die Sporen von *M. cerebralis* nach ca. 82 Tagen zu *Triactinomyxon gyrosalmo* entwickeln. Der Entwicklungsverlauf der beiden *Myxobolus*-Spezies in Darmepithel der *Tubifex* wurde untersucht und diskutiert.
- c. Die *Triactinomyxon*-Sporen gelangen ins Wasser entweder nach dem Tod der *Tubifices*, oder sie werden durch den Darmkanal ausgeschieden.
- d. Die Infektion von Mühlkoppen beziehungsweise Forellenbrut kann auf zwei Wegen erfolgen:
 1. Durch den Wasserweg
 2. Durch orale Aufnahme infizierter *Tubifices*

- e. Damit wird anhand des Beispiels zweier Myxobolus-Spezies bewiesen, daß die den Klassen Actinosporea bzw. Myxosporea angehörenden Vertreter der Genera Triactinomyxon bzw. Myxobolus nur alternative Lebensstadien eines einzigen Organismus darstellen.
- f. Triactinomyxon myxoboli cotti ist wirtsspezifisch und kann nicht Forellenbrut infizieren.

Summary

Studies on life cycle of *Myxobolus cerebralis* and *Myxobolus cotti*-transmission and light- and electron microscopical results

A. Myxosporea in bullheads (*Cottus gobio*)

At the examination of 169 bullheads from two regions an infection of the central nervous system by *Myxobolus cotti* El-Matbouli and Hoffmann, 1987 was found in 90 % of fish. Morphology of *M. cotti* was documented by light-, transmission- and scanning-electron-microscopy.

- 1- Fresh mature spores of *M. cotti* are generally oval with a tapering anterior end and covered by a $0.8\text{ }\mu\text{m}$ thick mucous layer. Polar capsules are pyriform and approximately equal in size. The fresh spores have a length of $12.40\text{ }\mu\text{m} \pm 1.38\text{ }\mu\text{m}$ and a width of $9.2\text{ }\mu\text{m}$. The polar filaments are $57.14\text{ }\mu\text{m} \pm 2.40\text{ }\mu\text{m}$ in length.
- 2- *M. cotti* is regarded as a neurotropic species since it was never found in another organ.
- 3- The taxonomy of *M. cotti* is discussed in comparison to 11 other *Myxobolus* spp. from the central nervous system of teleosts.
- 4- Large polysporous trophozoites of *M. cotti* lie between the nervous fibres of spinal cord and brain. In brain they are located in telencephalon, mesencephalon, cerebellum and in the medulla oblongata.
- 5- No defense reactions against trophozoites were found except a loose surrounding infiltration by glia cells in a few cases.
- 6- By transmission electron microscopy developing stages (pan-sporoblast, sporoblast) were found in addition to mature spores. Ultrastructure and development of valvogenic, capsulogenic, and sporoblast cells were described.

B. Transmission of *Myxobolus cerebralis* Hofer, 1903 and *Myxobolus cotti* El-Matbouli and Hoffmann, 1987

The transmission experiments give following results:

- a- Fresh spores of *M. cotti* and *M. cerebralis* as well as spores ripened for 5 months in mud were never directly infectious for bullheads (*Cottus gobio*) resp. rainbow trout (*Salmo gairdneri*)
- b- Spores of *M. cotti* and *M. cerebralis* (fresh or after 5 months in mud) are taken by tubifex worms. In their gut-epithelial-cells spores of *M. cotti* develop to *Triactinomyxon myxoboli cotti* after appr. 80 days. Spores of *M. cerebralis* transformed into *Triactinomyxon gyrosalmo* Wolf and Markiw, 1984 after about 82 days. The development of both species in gut-epithelium of tubifex is investigated and discussed.
- c- *Triactinomyxon* spores are deliberated into the water either by the alimentary canal or after the death of the worms.
- d- There are two possible ways for the infection of bullheads (*C. gobio*) resp. rainbow trout (*S. gairdneri*): either via the water or by feeding of infected tubificids.
- e- Regarding these results, it could be proven that the genera *Triactinomyxon* (class Actinosporea) and *Myxobolus* (class Myxosporea) are alternating life stages of one organism.
- f- *Triactinomyxon myxoboli cotti* has a host specifity and does not infect rainbow trout (*S. gairdneri*).

VI. Literaturverzeichnis

- Amlacher, E. (1986): Tachenbuch der Fischkrankheiten.
5. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- Auerbach, M. (1909): Die Sporenbildung von Zschokkella und
das System der Myxosporiden.
Zool. Anz. 35, 240-256
- Bond, F. F. (1938) Cnidosporidia from Fundulus heteroclitus
Lin.
Transactions of the American Microscopical Society
57, 107-122
- Butschli, O. (1882): Myxosporidia. Bronn's Klassen und Ordnungen
des Tierreiches.
Protozoa, 1, 590-603
- Bykhovskaya-Pavloskaya, I. E. (1964): Key to parasites of fresh-
water fish of the USSR. (US Dep. Int., Nat. Sci.
Found., Wash., D. C., Jerusalem, Progr. Sci. Transl.)
- Caullery, M. and Mesnil, F. (1905): Recherches sur les Actino-
myxidies.
Archiv f. Protistenkunde 6, 272-308
- Current, Wl. (1979: Henneguya adiposa Minchew (Myxosporida)
in the channel catfish: ultrastructure of the
plasmodium wall and sporogenesis.
J. Protozool. 26, 209-217
- Current, Wl. and Janovy, J. Jr. (1976): Ultrastructure of inter-
lamellar Henneguya exilis in the channel catfish.
J. Parasitol. 62, 975-981
- Current, Wl. and Janovy, J. Jr. (1977): Sporogenesis in Henneguya
exilis infecting the channel catfish: an ultrastruc-
tural study.
Protistologica 13, 157-167
- Current, Wl. and Janovy, J. Jr. (1978): Comparative study of
ultrastructure of interlamellar and intralamellar
types of Henneguya exilis Kudo from channel catfish.
J. Protozool. 25, 56-65
- Current, Wl., Janovy, J. Jr. and Stephen, A. K. (1979): Myxosoma
funduli Kudo (Myxosporida) in Fundulus kansae:
ultrastructure of the plasmodium wall and of
sporogenesis.
J. Protozool. 26, 574-583
- Daniels, S. B., Herman, R. L. and Burke, C. N. (1967): Fine
structure of an unidentified protozoon in the
epithelium of rainbow trout exposed to water with
Myxosoma cerebralis.
J. Protozool. 23 (3), 402-410

- Desser, S. S., Molnár, K. and Weller, I. (1983): Ultrastructure of Sporogenesis of *Thelohanellus nikoloskii* Akhmerov, 1955 (Myxozoa: Myxosporidia) from the common carp, *Cyprinus carpio*.
J. Parasitol. 69, 504-518
- Desser, S. S. and Paterson, W. B. (1978): Ultrastructural and cytochemical observations on sporogenesis of *Myxobolus* sp. (Myxosporidia: Myxobolidae) from the common shiner, *Notropis cornutus*.
J. Protozool. 25, 314-326
- Dönges, J. (1988): Parasitologie.
2. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart
- Doflein, F. (1901): Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger, nach biologischen Gesichtspunkten dargestellt.
G. Fischer, Jena. Xiii + 274 pp.
- Dyková, I., Löm, J. and Cirkovic, M. (1986): Brain myxoboliasis of common carp (*Cyprinus carpio*) due to *Myxobolus encephalicus*.
Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol. 6 (1), 10-11
- El-Matbouli, M. (1985): Verbreitung von Myxosporidien bei wildlebenden Fischen.
Dipl.-Arb., Ludwig-Maximilians-Universität, München
- El-Matbouli, M. und R. Hoffmann (1986): Verbreitung von Myxosporidien unter freilebenden Fischen in Bayern. in Deutsche Vet. Med. Ges. (Hrsg.): Tagung der Fachgruppe Fischkrankheiten, S. 63-71
- El-Matbouli, M. and R. Hoffmann (1986): Sphaerosporosis (*Sphaerospora cristata* Shulman, 1962) in burbot (*Lota lota*). International symposium "Ichthyopathology in aquaculture".
Oct. 21-24, 1986, Dubrovnik (im Druck)
- El-Matbouli, M. und R. Hoffmann (1987): Eine neue *Myxobolus*-Art (Myxozoa; Myxobolidae) im Zentralnervensystem der Koppe (*Cottus gobio*).
Verh. Dtsch. Zool. Ges. 80, 191
- El-Matbouli, M. Fischer-Scherl, T. and Hoffmann, R. (1987): Light- and electronmicroscopical studies on *Myxobolus cotti* El-Matbouli and Hoffmann, 1987, infecting central nervous system of bullhead (*Cottus gobio*).
2nd International Symposium of Ichthyoparasitology (Actual Problems in Fish Parasitology) Sept. 27 - Nov. 3, Tihany

- Erdman, R. (1971): Myxosporidian life cycle.
Am. Nat. 51, 719-739
- Fischer-Scherl, T., El-Matbouli, M. and Hoffmann, R. (1986):
Light- and electronmicroscopical studies on *Spaerosporea* sp. in kidneys of brown trout (*Salmo trutta*).
International Symposium (Ichthyopathology in aquaculture) Oct. 21-24, Dubrovnik (im Druck)
- Georgevitsch, J. (1935): Über Diplo- und Haplophase in Entwicklungsreise der Myxosporidien.
Arch. Protistenk. 84, 419-428
- Georgević, I. (1940): Recherches sur les Actinomyxidies.
3. *Triactinomyxon petri* n. sp.
Bull. Acad. Sci. Belgrade, 6, 141-162
- Gonzalez-Lanza, MA. o. and Alvarez-Pellitero, MA. P. (1984):
Myxobolus farionis n. sp. and *M. ibericus* n. sp. of *Salmo trutta* from the Duero basin (NW Spain).
Description and population dynamics.
Angew. Parasitol. 25, 181-189
- Grassé, P. P. (1960): Les Myxosporidies sont des organismes pluricellulaires.
C. R. Ac. Sci. 251, 2638-2640
- Halliday, M. M. (1973): Studies on *Myxosoma cerebralis*, a parasite of salmonids. II. The development and pathology of *Myxosoma cerebralis*, in experimentally infected rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fry reared at different water temperatures.
Nord. Vet. Med. 25, 349-358
- Halliday, M. M. (1976): The biology of *Myxosoma cerebralis*: the causative organism of whirling disease of salmonids.
J. Fish Biol. 9, 339-357
- Hamilton, A. J. and Canning, E. U. (1987): Studies on the proposed role of *Tubifex tubifex* (Muller) as an intermediate host in the life of *Myxosoma cerebralis* Hofer, 1903.
J. of Fish Diseases 10, 145-151
- Hoffman, G. L. and Putz, R. E. (1969): Host susceptibility and the effect of aging, freezing, heat and chemicals on spores of *Myxosoma cerebralis*.
Progve Fish Cult. 31, 35-37

- Hoffman, G. L. and Putz, R. E. (1970): Problems of research on *Myxosoma cerebraлис*. J. Parasit. 56, Proc. 2nd Int. Congr. Parasit. Abstr. No 278
- Hoffman, G. L., Putz, R. E. and Dunbar c. R. (1965): Studies on *Myxosoma cartilaginis* n. sp. (Protozoa: Myxosporidia) of centrarchid fish and a synopsis of the *Myxosoma* of North American freshwater fish. J. Protozool. 12, 319-332
- Hoffmann, R., W. Schäfer und F. Braun (1984): Massensterben von Weißfischen infolge von maligner Myxosporidien-Anämie (*Myxobolus dispar*). Fisch und Umwelt 13, 51-58
- Ikeda, I. (1912): Studies on some sporozoan parasites of Sipunculoids. I. The life history of a new Actinomyxidian. Tetractinomyxon intermedium g. et sp. nov. Archiv f. Protistenkunde 25, 240-272
- Janiszewska, J. (1955): Actinomyxidia: Morphology, ecology, history of investigations, systematics, development. Acta Parasitologica Polonica II, fasc.20, 405-437
- Janiszewska, J. (1957): Actinomyxidia II. New systematics, sexual cycle, description of new genera species. Zoologica Polonica 8, 3.34
- Keiz, G. (1964): Beobachtung über die Verschleppung und Bekämpfung von *Myxosoma cerebraлис* Hofer - Plehn in Forellenzuchtbetrieben. Z. Parasit. 25, 12-13
- Kent, M. L. and Hoffman, G. L. (1984): Two new species of Myxozoa, *Myxobolus inaquus* sp. n. and *Henneguya theca* sp. n. from the brain of a South American Knife fish, *Eigenmannia virescens* (v.) J. Protozool. 31, 91-94
- Kreier, J. P. and Ristic, M. (1984): Immunology of Malaria. In: Malaria and Babesiosis. M. Ristic, P. Ambroise-Thomas and J. P. Kreier (eds.). Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht/Boston/Lancaster, P. 35-51
- Kudo, R. R. (1922): On the morphology and life history of a *Leptotheca ohlmacheris* parasitic in *Rana clamitans* and *Rana pipiens*. Parasitology 14, 221-224
- Kudo, R. R. (1930): Myxosporidia. (In problems and methods of research in Protozoology, Ed. Hegner, R. W. and V. M. Andrews) Mc Mittan co., New York, 303-324
- Kudo, R. R. (1933): A taxonomic consideration of Myxosporidia. Trans. Amer. Microsc. Soc. 52, 195-216

- Lêger, L. (1904): Considération sur le genre *Triactinomyxon* et les *Actinomyxidies*.
C. R. Soc. Biol. Paris, 56, 180-205
- Levine, N. D., J.O. Corliss, F. E. G. Cox, G. Derouc, J. Grain, B. M. Honigberg, G. F. Leedale, A. E. Loeblich, J. Lôm, D. Lynn, E. G. Merinfeld, F.C. Page, G. Poljansky, V. Sprague, J. Vávra, and F. G. Wallace (1980): A newly revised classification of the Protozoa.
J. Protozool. 27, 37-58
- Lôm, J. (1964): Notes on the extrusion and some other features of myxosporidian spores.
Acta. Protozool. 2, 321-327
- Lôm, J. (1969): Notes on the ultrastructure and sporoblast development in fish parasitizing myxosporidian of the genus *Sphaeromyxa*.
Z. J. Zellforschung 97, 416-437
- Lôm, J. (1986): Myxozoa.
In: Margulis, L., Chapman, D. & Corliss, J. O. eds., Handbook of Protocists, Science Book International
- Lôm, D., Dyková, I. and Lhotaková, S. (1982): Fine structure of *Sphaero-spora renicola* Dyková and Lôm, 1982, a myxosporean from carp kidney and comments on the origin of pansporoblast.
Protistologica 18, 489-502
- Lôm, J., Dyková, I. and Pavlasková, M. (1983): "Undidentified" mobile protozoans from the blood of carp and some unsolved problems of myxosporean life cycles.
J. of Protozool. 30, 497-508
- Lôm, J. and Hoffman, G. L. (1971): Morphology of the spores of *Myxosoma cerebralis* (Hofer, 1903) and *M. cartilaginis* (Hoffman, Putz and Dunbar, 1965)
J. Parasitol. 57, 1303-1308
- Lôm, J., Körting, W. and Dyková, I. (1985): Light and electron microscope redescription of *Spaerospora tincae* Plehn, 1925 and *S. galinae evlanov*, 1981 (Myxosporea) from the tench, *Tinca tinca* L.
Protozool. 4, 487-497
- Lôm, J. and E. R. Noble (1984): Revised classification of the class myxosporea Buschtli, 1881.
Folia Parasitologica (Praha) 31, 193-205

- Lôm, J. and P.D. Puytorac (1965): Studies on the myxosporidian ultrastructure and polar capsul development. *Protistologica* 1, 53-65
- Lôm, J. and Vavra, J. (1965): Notes on the morphogenesis of the polar filament in *Henneguya* (Protozoa, Cnidosporidia). *Acta Protozoologica* 3, 57-60
- Mackinnon, D. L. and Adam, D. I. (1924): Notes on Sporozoa parasitic in *Tubifex*. I. The life history of *Triactinomyxon* Stolc. *Quart. J. of Microsc. Science* 68, 187-209
- Markiw, M. E. and Wolf, K. (1983): *Myxosoma cerebralis* (Myxozoa, Myxosporae) etiologic agent of salmonid whirling disease requires tubificid worms (Annelida: Oligochaeta) in its life cycle. *J. Protozool.* 30, 561-564
- Marqués, A. and Ormières, R. (1981): Morphogénèse animale-Adaptation à la vie planctonique de spores d' Actinomyxidies, d'après étude en microscopie électronique à balayage. *C. R. Acad. Sc. Paris* 293, 287-290
- Meyers, T. U., Scala, J. and Simmons, E. (1970): Modes of transmission of whirling disease of trout. *Nature, Lond.* 227, 622-623
- Mitchell, L. G., Seymour, C. L. and Gamble, J. M. (1985): Light and electron microscopy of *Myxobolus hendricksoni* sp. nov. (Myxozoa: Myxobolidae) infecting the brain of the fathead minnow, *Pimephales promelas*. *J. of Fish Disease* 8, 75-89
- Molnár, K. (1984): Experimental evidence that protozoans causing swimbladder inflammation in common carp (*Cyprinus carpio*, L.) are stages of *Spaerospora renicola*. *Bull. Eur. Ass. Fish Path.* 4, 14-15
- Molnár, K. (1986): New observations on the vegetative development of myxosporeans in the fish. *Dt. Veterinärmed. Ges. e. V. - DVG*, 1986, München 28./29, Okt. 72-76
- Mulsow, K. (1911): Ein neuer Gehirnparasit des Karpfens. *Allgem Fisch.-Zeitung* 36, 483-485
- Noble, E. R. (1943): Nuclear cycles in the protozoan parasite *Myxidium gasterostei* n. sp. *J. Morphol.* 73, 281-295

- Noble, E. R. (1944): Life cycles in the Myxosporidia.
Quart. Rev. Biol. 19, 213-235
- O'Grodnick, J. and Gustafson, C. C. (1974): A study of transmission, life history and control of whirling disease of trout.
Federal Aid to Fish Restoration Progress Report F-35-6; Commonwealth of Pennsylvania, Pennsylvania Fish Commission (zitiert nach Halliday, 1976)
- Plehn, M. (1904): Über die Drehkrankheit der Salmoniden Lentspora cerebrales (Hofer).
Arch. Protistenk. 5, 145-166
- Plehn, M. (1924): Praktikum der Fischkrankheiten
In: Demoll-Maier, Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas. Band 1. E. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart
- Prihoda, J. (1983): Experimental infection of rainbow trout fry with Myxosoma cerebrales Hofer, 1903, in Parasites and Parasitic Diseases of Fish, pp. 98.
Proceedings of the 1st International Symposium of Ichthyoparasitology, Ceské Budejovice, 8-13 August 1983
- Putz, R. E. (1970): Experimental transmission of Myxosoma cerebrales (whirling disease) and effect of freezing on the spores.
Progve sport fish res. 55-57
- Putz, R. E. and Herman, R. L. (1970): Studies on the earliest susceptibility of rainbow trout to Myxosoma cerebrales and exposure time.
J. Parait. 56, Proc. 2nd int. congr. Parasit. Abstr. No 833
- Putz, R. E. and Hoffman, G. L. (1970): Transmission of Myxosoma cerebrales (whirling disease)
Progve sport. Fish. Res. 1970, 93-99
- Schäfer, W. and R. Hoffmann (1985): Fischsterben im Main.
Mehrere Krankheiten - eine Ursache.
Fisch und Umwelt, 7, 199-203
- Schäperclaus, W. (1931): Die Drehkrankheit in der Forellenzucht und ihre Bekämpfung.
Z. Fisch. 29, 521-567
- Schäperclaus, W. (1979): Fischkrankheiten.
Akademie Verlag Berlin (4. Aufl.)
- Schuberg, A. und Schröder, O. (1905): Myxosporidien aus dem Nervensystem und der Haut der Bachforelle (Myxobolus neurobius n. sp. und Henneguya nüsslini n.sp.)
Arch. Protistenk. 6, 47-60

- Schubert, G. (1968): Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Sporenentwicklung von *Henneguya pinnae* Schubert (Sporozoa, Myxosporidia, Myxobolidae).
Z. Parasitenk. 30, 57-77
- Schubert, G., Sprague, V., and Reinboth, R. (1975): Observation on a new species of unicapsula (Myxosporidia) in fish *Maenasmaris* (L.) by conventional and electron microscopy.
Z. Parasitenk. 46, 245-252
- Shulman, S. S. (1959): New classification of myxosporidia.
Tr. Karelsk. fil. ANSSSR,
Vorpr. Parazitol. Karelii 33-47 (in russisch)
- Shulman, S. S. (1966): Myxosporidia of the fauna of the USSR.
Nauka, Moscow - Leningrad, 504 p.p. (in russisch)
- Shulman, S. S. (1984): Parasitic protozoa, key to parasites of fresh-water fish of USSR.
Vol. 1, Izd. "Nauka", Leningrad, 428 pp (in russisch)
- Siau, Y. (1977): Première études du développement expérimental en cultures des spores de la Myxosporidie, *Myxobolus exquus* Thelohan, 1895.
C. r. Acad. Sci. D. 285, 681-683
- Sprague, V. (1970): Recent problems of taxonomy and morphology of Haplosporidia.
J. Parasitol. 56, 327-328
- Stempell, W. (1919): Untersuchungen über *Leptotheca coris* n.sp. und das in dieser schmarotzende *Nosema marionis* Thél.
Ach. Protistenk. 40, 113-157
- Stolc, S. (1899): Actinomxydies, nouveau groupe des Mesozoaires parent des Myxosporidies.
Bull. Intern. Acad. Sci. des Bohême 22, 142-162
(zitirt nach Janiszewska, 1955)
- Tripathi, Y. R. (1948): Some new myxosporidia from Plymouth with a proposed new classification of the order.
Parasitology 39, 110-118
- Uspenskaya, A. V. (1978): Biological peculiarities of the spore stage of *Myxosoma cerebrealis* (Myxosporida: Myxosomatidae).
Parasitologiya 12, 15-20 (in russisch)
- Uspenskaya, A. V. (1981): Comparison of cytophotometric and electronmicroscopic results of sporogenesis investigations in Myxosporidia belonging to various taxonomic groups.
Tsitologiya 23, 570-580

- Walliker, D. (1968): The nature of the iodophilous vacuole of myxosporidian spores, and a proposal to synonymize the genus *Myxosoma* Thélohan, 1892 with the genus *Myxobolus* Bütschli, 1882.
J. Prot. 15, 571-575
- Weidner, E. and Overstreet, R. M. (1979): Sporogenesis of a myxosporidian with motile spores.
Cell Tissue Res. 201, 331-342
- Wolf, K. and Markiw, M. E. (1984): Biology contravenes taxonomy in the Myxozoa: new discoveries show alternation of invertebrate and vertebrate hosts.
Science 225, 1449-1452
- Wolf, K., Markiw, M. E. and Hiltunen, J. K. (1986): Salmonid whirling disease: *Tubifex tubifex* (Müller) identified as the essential oligochaete in the protozoan life cycle.
J. of Fish Diseases 9, 83-85
- Wyatt, E. J. (1978): A new host and site of infection for *Myxobolus kisutchi* and host record for *Myxobolus insidiosus*.
J. Parasitol. 64, 169-170
- Yamamoto, T. and Sanders, J. E. (1979): Light and electron microscopic observations of sporogenesis in the myxosporidia, *Ceratomyxa shasta* (Noble, 1950).
J. of Fish Diseases 2, 411-428
- Yasutake, W. T. and Wood, E. M. (1957): Some myxosporidia found in Pacific Northwest salmonids.
J. Parasitol. 43, 633-642

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. habil. R. Hoffmann für die Überlassung des Dissertationsthemas, die wissenschaftliche Anleitung sowie die vorbildliche Betreuung.

Ebenfalls möchte ich Herrn Prof. Dr. M. Renner und Herrn Prof. Dr. O. Siebeck für ihre Bemühungen zum Zustandekommen dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Frau Dr. Th. Fischer-Scherl danke ich für die jederzeit gewährte Hilfe und für die gute Zusammenarbeit

Herrn Dr. P. Scheinert danke ich für seine große Hilfe bei der Beschaffung der Mühlkuppen sowie bei der Anfertigung der Zeichnungen in dieser Arbeit.

Allen Mitarbeitern des Institutes für Zoologie und Hydrobiologie, die zum Zustandekommen dieser Arbeit beigetragen haben, möchte ich herzlich danken.

Die vorliegende Arbeit wurde freundlicherweise von der Friedrich-Ebert-Stiftung finanziell unterstützt.

Lebenslauf

Name: Mansour El-Matbouli Abd El-Rahmann

geboren: 7. Juli 1956 in Meet-Dafer bei El-Mansoura, Ägypten

Familienstand: verlobt mit der Pharmazie-Studentin Mona Abd El-Ghany Ahmed

Schulbesuch: 1962-1968 Grundschule in Meet-Dafer, Ägypten
1968-1974 Realschule und Gymnasium in Dekernes / Ägypten

Schulabschluß: Juli 1974 - Zeugnis der Reife (Abitur)

Studium der Biologie: 1974-1978 an der Faculty of Science, Assiut University

Studiumabschluß: 1978 - Erlangung des Grades eines Bachelor in Zoology (B.Z. SC) mit dem Gesamtprädikat "very good"

Studium der deutschen Sprache: Mai, 1979 - August, 1980 am Goethe-Institut, Grafing und ein Deutschkurs für Ausländer bei der Universität München

Studium der Biologie: WS 1980 - WS 1984 an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
Abschluß mit dem mündlichen Teil der Dipl.-Biologen-Hauptprüfung am 24.05.1984

Diplomarbeit: 1.6.1984 bis Juli 1985 bei Professor Dr. Hoffmann mit dem Titel:
Verbreitung von Myxosporidien bei wildlebenden Fischen

Abschluß: September 1985 - Erlangung des Grades eines Diplom-Biologen mit dem Prädikat 1 "sehr gut"

Promotionsstudium: Ab September 1985

